

*Skripsi*

**METABOLIT SEKUNDER FRAKSI AKTIF *A. salina* EKSTRAK *n*-HEKSAN  
KULIT BATANG *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* DAN  
BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI ANTI *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF)**

**FELYCITAE EKALAYA APPA  
H311 12 260**



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2017**

**METABOLIT SEKUNDER FRAKSI AKTIF *A. salina* EKSTRAK *n*-HEKSAN  
KULIT BATANG *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* DAN  
BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI ANTI *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF)**

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat*

*Untuk memperoleh gelar sarjana*

**FELYCITAE EKALAYA APPA**

**H311 12 260**



P

**MAKASSAR  
2017**

**SKRIPSI**

**METABOLIT SEKUNDER FRAKSI AKTIF *A. salina* EKSTRAK *n*-HEKSAN  
KULIT BATANG *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* DAN  
BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI ANTI *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF)**

Disusun dan diajukan oleh

**FELYCITAE EKALAYA APPA  
H311 12 260**

Hasil penelitian ini telah diperiksa dan disetujui oleh:

**Pembimbing Utama**



**Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, MS**  
**NIP. 19601215 198702 2 001**

**Pembimbing Pertama**



**Dr. Firdaus, M.S.**  
**NIP. 19600909 198810 1 001**

## PRAKATA

Syalom...

Puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus atas berkat, karunia, dan kasihNya yang sangat besar sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan hasil penelitian yang berjudul “**Metabolit Sekunder Fraksi Aktif A. *Salina* Ekstrak *n*-Heksan Kulit Batang *Melochia Umbellata* (Houtt) Stapf Var. *Visenia* Dan Bioaktivitasnya Sebagai Anti *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF)”** sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana pada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin Makassar.

Penulis mempersembahkan laporan hasil penelitian ini kepada orang tua tercinta (**Bartholomeus Appa** dan **Rosalina Ruruk**), yang senantiasa mendukung dalam doa, memberikan kasih sayang, selalu sabar, serta selalu memberikan motivasi, sehingga penulis dapat menyelesaikan hasil penelitian ini. Buat adik terkasih **Zimeone Dwisanggalaya Appa** terima kasih atas kehangatan, kepedulian, serta kasih sayang yang selalu terjalin antara kita berdua.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada Ibu **Prof. Dr. Nunuk Hariani S., MS** selaku pembimbing utama, serta bapak **Dr. Firdauz, M.S** selaku pembimbing pertama sekaligus pembimbing akademik, yang telah memberikan saran serta solusi yang sangat berharga dalam menyusun hasil penelitian ini. Terima kasih pula telah bersabar serta meluangkan waktu dalam membimbing penulis. Penulis meminta maaf atas segala perilaku serta ucapan yang tidak berkenan selama penelitian hingga penyusunan laporan hasil penelitian ini.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ketua dan Sekretaris Jurusan Kimia, Dr. Indah Raya, M.Si dan Dr. Muhammad Zakir, M.Si, seluruh Dosen yang telah membagi ilmunya serta staf Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Hasanuddin. Terima kasih bantuan dan kerjasamanya.
2. Tim Penguji Ujian Sarjana Kimia, Dr. Abd. Karim, M.Si; Dr. St.Fauziah, M.Si; Dr. Indah Raya, M.Si dan Dra. Hj. Asmawati A., MS terima kasih atas bimbingan dan saran-saran yang diberikan.
3. Seluruh bapak dan ibu dosen Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin atas segala ilmu yang telah diberikan.
4. Seluruh analis laboratorium: Pak Sugeng, Kak Fiby, Kak Linda, IbuTini, Kak Anti, Pak Iqbal dan Pak Taufik. Terima kasih atas bantuan yang diberikan selama penelitian.
5. Segenap civitas akademika Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang dengan sabar memberikan arahan dan bantuannya.
6. Petugas perpustakaan FMIPA: Ibu Misnawati dan kak Rana yang selalu bersabar menghadapi kelakuan Angk. 2012.
7. Teman Tim Panel Penelitian, Nur Aqlia, Septaria Yolana KL, Baso Agung, Kak Nur Aeni, Kak Fauziah Ahmad, terima kasih karena selalu menemani dalam suka dan duka, selalu berbagi solusi untuk kemajuan penelitian.
8. Saudara-saudara PA: kak Yanti Sunaidi (kakak PA), Septaria Yolana KL, dan Dwi Niche yang saling menguatkan dalam segala persoalan melalui doa, sharing bersama, serta bertumbuh bersama dalam iman.
9. Sahabatku (Septaria Yolana KL, Gisella Tamara M, dan Yinvelia Pratiwi) dan keluarga kecil kampus (Septaria Yolana KL, Nini Astuti Alwi, Ayu Ika Pratiwi,

Yenni Octaviana, Baso Agung, Annisa Nur Khaerani, Sultan, Agustina Lopang, Nurhardiyanti, Asriandy Ramadhan, Rifka saputri, dan Nur Fauziah) yang tak pernah lelah memberi semangat dan motivasinya serta selalu membantu dan membagi ilmu serta cerita selama penelitian.

10. Sepupu-sepupu seperantauan Novianti, Sion Ratih, Fidelia Lotte, Yunda Echi yang senantiasa memberikan motivasi, dukungan doa, moral, dan materi.
11. Keluarga besar peneliti di Laboratorium Kimia Organik Pak Zakaria, Pak Abraham, Kak Sabir, Kak Fajar, Kak Eni, Kak Uci, Kak Agustan, Kak Zul, Kak Tadir, Kak Alamsyah, Ibu Mirwadifah, Ibu Bahja, Kak Asmi, Kak Musdalifah, Ahmad Nur, Annisa, Baso Agung, Septaria, Aqlia, Murtina, Wawan, Ifa, Firah, Rismauli, Riska, dan Ahdan. Terima kasih telah memberi semangat, motivasi kepada penulis.
12. Saudara-daudara seiman angkatan 2012 Kimia (Imelda Pong Labba, Desri La'bi Langi', Yunita Pare Rombe, Maretrin, Dwi Niche, Meisetia Sumomba, Egi Heury, Yafyet, Renhard) dan MIPA 2012 (Ruman, Astrid Suppa, Nisri, Koba, Feydri, Yudi, Fandy, Yawan, Jemi, Handa).
13. Rekan-rekan Kimia **H3120ES**. Terima kasih atas semua dukungan, semangat dan persahabatan yang telah kalian berikan. Semoga kelak kita semua menjadi orang-orang yang sukses.
14. Seluruh saudara seiman dalam GMKI Kom. FMIPA Unhas dan PMKO Filadelfia MIPA-Farmasi Unhas.
15. Kanda-kanda (Kak canci, kak yani, kak sukma, kak rasti, kak ithen, dan kak anto) atas dukungannya serta motivasinya.
16. Semua pihak yang tidak sempat tersebut namanya yang telah memberikan bantuan, dukungan dan doa kepada penulis.

Penulis sadar bahwa apa yang disajikan dalam skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritikan dan saran yang bersifat membangun dari berbagai pihak. Akhirnya, penulis berharap semoga laporan hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat kepada para peneliti selanjutnya dalam bidang Kimia Organik, khususnya bidang isolasi.

**Penulis**

**2017**

## ABSTRAK

Penelitian isolasi, identifikasi, dan karakterisasi metabolit sekunder fraksi aktif terhadap *A. salina* Leach ekstrak *n*-heksan dari kulit batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* dan bioaktivitasnya sebagai anti DHF telah dilakukan, metode yang digunakan antara lain maserasi, evaporasi, fraksinasi, serta pemurnian. Pengujian aktivitas anti virus ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode *Focus Formation Unit Reduction Assay* (FFURA) dan diukur menggunakan *ELISA reader*. Senyawa yang diperoleh diidentifikasi berdasarkan data IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, HSQC, HMBC, dan COSY. Senyawa yang berhasil diisolasi antara lain senyawa I dengan bobot 2 mg, senyawa II dengan bobot 2,2 mg, dan senyawa III dengan bobot 51 mg. Senyawa III memiliki titik leleh 144-145°C. Hasil uji fitokimia ketiga senyawa yaitu golongan alkaloid. Kemungkinan struktur senyawa III yang diperoleh yaitu pseudoalkaloid (steroid alkaloid). Nilai IC<sub>50</sub> ekstrak yang diperoleh sebesar 2,39 µg/mL yang aktif menghambat virus *dengue* (DENV-2).

Kata kunci: Isolasi, *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*, Fraksi Aktif, ekstrak *n*-heksan, Alkaloid, Spektroskopi IR, H<sup>1</sup>-NMR, C<sup>13</sup>-NMR, Anti DHF.



## ABSTRACT

Research on isolation, identification, and characterization of secondary metabolites of active fraction on *A. salina* Leach extract *n*-hexane of bark of *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visnia* and bioactivity as anti-DHF have been done, by using methods maceration, evaporation, fractionation, and purification. Examination of antiviral activity of extract was done by using *Focus Formation Unit Reduction Assay* (FFURA) method and measured using ELISA reader. The compounds obtained were identified based on FT-IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, HSQC, HMBC, dan COSY. By this research were obtained compound I with weight 2 mg, compound II with weight 2,2 mg, and compound III with weight 51 mg. Compound III having melting point 144-145°C. The results of phytochemical tests of the all compounds namely the alkaloid. Possible structure of compound III obtained is pseudoalkaloid (alkaloid steroid). The value of IC<sub>50</sub> extract obtained by 2,39 µg/mL actively inhibits dengue virus (DENV-2).

Keywords: Isolation, *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visnia*, Active Fraction, *n*-hexane extract, Alkaloids, IR Spectroscopy, H<sup>1</sup>-NMR, C<sup>13</sup>-NMR, Anti DHF.

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
PRAKATA.....	iii
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Maksud Penelitian.....	5
1.3.2 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	
2.1 Uraian Tumbuhan.....	6
2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan.....	6
2.1.2 Deskripsi Tumbuhan.....	6
	ix

2.2 Etnobotani Tumbuhan Famili Malvaceae .....	7
2.3 Kemotaksonomi Tumbuhan Famili Malvaceae .....	8
2.4 Uji Toksisitas.....	15
2.5 Uji Anti Virus.....	16
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>18</b>
3.1 Bahan Penelitian.....	18
3.2 Alat Penelitian .....	18
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian .....	19
3.4 Prosedur Penelitian.....	19
3.4.1 Pengumpulan Bahan Tumbuhan .....	19
3.4.2 Isolasi .....	19
3.4.3 Uji Fitokimia .....	21
3.4.4 Identifikasi.....	21
3.4.5 Uji Toksisitas.....	21
3.4.6 Uji Anti <i>Dengue Hemorrhagic Fever</i> (DHF) .....	22
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>25</b>
4.1 Hasil Penelitian .....	25
4.1.1 Maserasi dan Uji Fitokimia Ekstrak.....	25
4.1.2 Fraksinasi dan Pemurnian .....	26
4.2 Analisis Data Spektroskopi .....	34
4.2.1 Spektroskopi FT-IR dan NMR Senyawa I .....	34
4.2.2 Spektroskopi FT-IR dan NMR Senyawa II.....	36
4.2.3 Spektroskopi FT-IR dan NMR Senyawa III .....	38
4.3 Uji Anti Virus.....	42
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>43</b>

5.1 Kesimpulan .....	43
5.2 Saran .....	43
DAFTAR PUSTAKA .....	44
LAMPIRAN .....	48

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Hasil uji fitokimia ekstrak <i>n</i> -heksan kulit batang <i>Melochia umbellata</i> (Houtt) Stapf var. <i>Visenia</i> .....	25
2. Hasil uji toksisitas (LC <sub>50</sub> ) fraksi gabungan .....	27
3. Data spektroskopi <sup>1</sup> H-NMR dan <sup>13</sup> C-NMR senyawa III.....	41

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Melochia umbellata</i> (Houtt) Stapf var. <i>Visenia</i> .....	6
2. Kromatogram ekstrak <i>n</i> -heksan hasil fraksinasi KKV (a). dibawah UV <i>short wave</i> ; (b). dibawah UV <i>long wave</i> .....	26
3. Kromatogram fraksi gabungan .....	27
4. Kromatogram hasil analisis setelah pencucian (a). dibawah UV <i>short wave</i> ; (b). dibawah UV <i>long wave</i> (c). setelah disemprot H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 10%.	28
5. Kromatogram hasil analisis KLT kristal fraksi C.....	29
6. Kromatogram hasil analisis KLT dua dimensi kristal fraksi C .....	29
7. Kromatogram hasil analisis KLT fraksi D.....	30
8. Kromatogram hasil analisis KLT kristal fraksi D <sub>8</sub> .....	31
9. Kromatogram hasil analisis KLT dua dimensi kristal fraksi D <sub>8</sub> .....	31
10. Kromatogram hasil analisis KLT fraksi D <sub>10</sub> .....	32
11. Kromatogram hasil analisis KLT kristal fraksi D <sub>10</sub> .....	33
12. Kromatogram hasil analisis KLT dua dimensi kristal fraksi D <sub>10</sub> .....	33
13. Spektrum FT-IR senyawa I.....	34
14. Spektrum <sup>1</sup> H-NMR senyawa I.....	35
15. Spektrum FT-IR senyawa II .....	36
16. Spektrum <sup>1</sup> H-NMR senyawa II.....	37
17. Spektrum FT-IR senyawa III.....	38
18. Spektrum <sup>13</sup> C-NMR senyawa III .....	39
19. Spektrum <sup>1</sup> H-NMR senyawa III .....	40
20. Kerangka dasar senyawa III.....	42

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan isolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak <i>n</i> -heksan kulit batang tumbuhan <i>M. umbellata</i> (Houtt) Stapf var. <i>Visenia</i> .....	48
2. Bagan isolasi senyawa I, II, III dari Fraksi Aktif.....	49
3. Skema kerja uji toksisitas (BSLT) .....	51
4. Bagan fraksi aktif dan tidak aktif.....	52
5. Nilai LC <sub>50</sub> fraksi C dan fraksi D .....	53
6. Bagan uji fitokimia .....	55
7. Perhitungan daya hambat (IC <sub>50</sub> ) anti virus.....	57
8. Dokumentasi penelitian .....	59

## DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

BSLT	= <i>Brine Shrimp Lethality Test</i>
IC <sub>50</sub>	= <i>Inhibitor Concentration 50%</i>
LC <sub>50</sub>	= <i>Lethal Concentration 50%</i>
FT-IR	= <i>Fourier Transform Infrared</i>
H-NMR	= <i>Hydrogen Nuclear Magnetic Resonance</i>
C-NMR	= <i>Carbon Nuclear Magnetic Resonance</i>
DMEM	= <i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
FBS	= <i>Fetal Bovine Serum</i>
PBS	= <i>Phosphate Buffered Saline</i>
FFURA	= <i>Focus Formation Unit Reduction Assay</i>
ELISA	= <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
UV	= <i>Ultraviolet</i>
KKV	= <i>Kolom Kromatografi Vakum</i>
KKT	= <i>Kolom Kromatografi Tekan</i>
KKG	= <i>Kolom Kromatografi Gravitasi</i>



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Eksplorasi tumbuhan di Indonesia untuk dijadikan sebagai sumber bahan obat telah banyak digunakan sejak dulu. Indonesia memiliki keanekaragaman hayati khususnya hutan tropika yang dapat dijadikan sebagai sumber produksi bahan kimia hayati yang memiliki nilai ekonomis yang tinggi. Salah satu alternatif yang dapat menjawab dan memecahkan permasalahan dalam bidang kesehatan adalah penelitian kimiawi tumbuh-tumbuhan sebagai sumber utama model molekul-molekul bioaktif (Ersam, 2004). Tumbuhan tropis banyak di jumpai pada hutan tropika.

Tumbuhan tropis diyakini memiliki kemampuan menghasilkan beranekaragam senyawa kimia alami yang mempunyai bioaktivitas tertentu baik sebagai antifungi, sitotoksik, pestisida, dan insektisida. Senyawa kimia yang dihasilkan mendukung dalam pertahanan diri terhadap ancaman berbagai kondisi, baik karena faktor iklim, maupun gangguan serangga, serta hama penyakit (Wink, 2003). Banyak tumbuhan tropis yang memiliki khasiat sebagai obat tradisional, salah satunya adalah tumbuhan dari famili Malvaceae. Famili Malvaceae terdiri atas 243 genus dan sekitar 4.300 spesies (Konate, dkk., 2010).

Tumbuhan paliasa merupakan salah satu tumbuhan dari famili Malvaceae yang digunakan oleh masyarakat khususnya di Sulawesi Selatan sebagai obat yang mampu mengobati penyakit liver, hipertensi, diabetes, kolesterol tinggi dan hepatitis (Raflizar, dkk., 2006). Tumbuhan paliasa dibagi menjadi dua spesies yaitu *Kleinhovia hospita* Linn dan *Melochia umbellata*. *Melochia umbellata* terbagi

menjadi dua varietas yakni *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. Degrabrata K. dan *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. Visenia (Nuvita, 2006).

Erwin, dkk., (2009), mengemukakan bahwa jaringan yang paling aktif adalah ekstrak kayu batang dan kulit batang, hal ini didukung oleh hasil uji toksisitas ekstrak metanol pada bagian jaringan kulit akar, kayu akar, kulit batang, kayu batang dan daun dari *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. Degrabrata K. terhadap *A. salina* dengan nilai  $LC_{50}$  masing-masing sebesar 66,22; 37,343; 30,27; 1,80 dan 84,26  $\mu\text{g/mL}$ .

Senyawa jenis terpenoid turunan oleanan yaitu 3-asetil-12-oleanan-28-olat telah berhasil diisolasi dari fraksi *n*-heksan kulit batang *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. Degrabrata K. yang aktif terhadap *A. salina* dengan  $LC_{50}$  361,93  $\mu\text{g/mL}$  (Usman, 2014), selain itu 2,3-dihidroksi-12-oleanan-28-olat dan 2-hidroksi-12-oleanan-28-olat berhasil diisolasi dari fraksi kloroform kulit batang *K. hospita* Linn (Soekamto, dkk., 2010). 3-asetoksi-12-oleanan-28-olat telah diisolasi dari fraksi *n*-heksan kulit akar *K. hospita* Linn yang toksik terhadap *A. salina* (Stepanus, 2011). Fandi (2010), telah berhasil mengisolasi 3-hidroksi-12-oleanan-28-olat dari fraksi *n*-heksan kulit akar *K. hospita* Linn. Senyawa jenis steroid yaitu  $\beta$ -sitosterol telah berhasil diisolasi dari ekstrak *n*-heksan dan kloroform dari kulit batang *K. hospita* Linn (Soekamto, dkk., 2008, & Dini, 2005). Senyawa golongan stigmasterol yaitu 5,22-stigmastadien-3 $\beta$ -ol telah berhasil diisolasi dari ekstrak *n*-heksan kayu akar *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. Degrabrata K. (Ridhay, dkk., 2012). Senyawa-senyawa kimia yang telah berhasil diisolasi memiliki bioaktivitas yang berbeda-beda sehingga dapat digunakan sebagai salah satu alternatif dalam menyembuhkan berbagai penyakit.

Salah satu penyebab timbulnya penyakit dalam diri manusia adalah tubuh terinfeksi virus, virus sangatlah berbahaya dikarenakan parasit dalam intrasel yang

menggunakan sel inang sebagai media, ketika sel inang bereplikasi maka virus ikut bereplikasi pula, sehingga sangat dibutuhkan suatu agen yang mampu membunuh virus dengan cara menekan kemampuannya untuk bereplikasi. Salah satu jenis virus yang penyebarannya sangat cepat adalah *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF) atau yang dikenal dengan DBD.

Penyakit DBD adalah penyakit yang ditimbulkan akibat tubuh terinfeksi Virus *dengue* yang diakibatkan oleh *Aedes aegypti* yang mengalami peningkatan populasi terkait dengan perubahan cuaca yaitu hujan yang terjadi pada saat musim panas yang dikenal dengan musim pancaroba (Roose, 2008). Mulai awal Januari sampai pertengahan bulan Desember tahun 2014 tercatat penderita DBD di 34 provinsi di Indonesia sebanyak 71.668 orang (Kemenkes, 2016). Angka ini tampak masih sangat besar, sehingga perlu ada upaya yang dilakukan untuk meminimalisir penderita DBD salah satunya adalah mencari hasil isolasi bahan alam yang berpotensi sebagai anti virus *dengue*.

Berbagai penelitian mengenai bioaktivitas senyawa sebagai antivirus telah dilakukan antara lain, senyawa flavonoid yang telah diisolasi dari ekstrak metanol salah satu jenis Malvaceae yaitu *Thespesia populene* memperlihatkan hasil aktivitas antivirus yang sangat kuat yaitu  $EC_{50} = 20 \mu\text{g/mL}$  dan aktif pula sebagai antibakteri (Arthanari, dkk., 2011). Senyawa flavonoid lainnya yang telah diisolasi dari ekstrak kloroform kayu batang *M. umbellata* adalah senyawa cleomiskosin, serta senyawa waltherion C yang aktif terhadap *A. salina*, serta memiliki aktivitas anti-HIV (Erwin, 2014).

Gressler, dkk., (2007) telah berhasil mengisolasi senyawa alkaloid 4-quinolon dari ekstrak *n*-heksan kulit batang *W. Douradinha* yaitu waltherion B dan vanassin yang aktif terhadap *A. salina* serta sebagai antibakteri. Tiga jenis senyawa

alkaloid 4-quinolon telah diisolasi dari ekstrak metanol *M. odorata* yaitu waltherion A dan waltherion C yang memperlihatkan aktivitas yang signifikan sebagai anti-HIV yaitu pada konsentrasi 0,84 dan 56,2  $\mu\text{M}$  serta terhadap HIVP24 yaitu 0,95 dan 1,7  $\mu\text{M}$  (Jadulco, dkk., 2014).

Penjelasan di atas memberikan gambaran bahwa hasil isolasi metabolit sekunder dari tumbuhan Malvaceae berpotensi sebagai anti virus. Oleh karena *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* merupakan salah satu spesies dari famili Malvaceae, maka dapat pula diharapkan ekstrak tumbuhan tersebut bersifat anti virus. Berdasarkan alasan tersebut, sehingga dilakukan penelitian mengenai isolasi metabolit sekunder fraksi *n*-heksan yang aktif terhadap *A. salina* dari kulit batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* dan potensi ekstrak *n*-heksan sebagai anti *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF).

## **1.2 Rumusan Masalah**

Adapun masalah yang dapat dirumuskan pada penelitian ini yaitu:

- a. Senyawa apakah yang dapat diisolasi dari fraksi aktif terhadap *A. salina* ekstrak *n*-heksan pada kulit batang *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* dan bagaimana strukturnya ?
- b. Bagaimana aktivitas ekstrak *n*-heksan kulit batang *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* sebagai anti *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF)?

## **1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Maksud Penelitian**

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder fraksi aktif terhadap *A. salina* ekstrak *n*-heksan dari kulit batang *M. umbellata* (Houtt) Stapf. var. *Visenia*. Serta aktivitas ekstrak sebagai anti *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF).

### 1.3.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

- a. Mengisolasi, mengidentifikasi dan menentukan struktur senyawa metabolit sekunder fraksi aktif terhadap *A. salina* ekstrak *n*-heksan pada kulit batang *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*
- b. Menguji aktivitas ekstrak *n*-heksan kulit batang *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* sebagai anti *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF).

### 1.4 Manfaat Penelitian

Berdasarkan tujuan dan latar belakang, maka penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut :

- a. Mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*.
- b. Mengetahui aktivitas ekstrak *n*-heksan dari kulit batang *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* sebagai anti *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF).
- c. Menjadi bahan masukan bagi penelitian dan bagi masyarakat tentang khasiat/manfaat kulit batang *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Uraian Tumbuhan

##### 2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan

Klasifikasi tumbuhan *M. umbellata* (USDA-NRCS, 2012):

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivision	: Spermatophyta
Division	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Dilleniidae
Ordo	: Malvales
Famili	: Malvaceae
Genus	: <i>Melochia</i>
Spesies	: <i>Melochia umbellata</i> (Houtt.) Stapf
Varietas	: Visenia



**Gambar 1.** *M. umbellata* (Houtt)  
Stapf var. Visenia

##### 2.1.2 Deskripsi Tumbuhan

Famili Malvaceae terdiri dari 243 genus dan sekitar 4.300 spesies. Famili Malvaceae sebagian besar hidup pada iklim tropis dan subtropis, famili Malvaceae biasanya tumbuh di daerah savana dan tepi hutan (Konate, dkk., 2010). Salah satu tumbuhan dari famili Malvaceae yang digunakan oleh masyarakat khususnya di Sulawesi Selatan sebagai obat yaitu tumbuhan paliasa.

Tumbuhan paliasa dibagi menjadi dua spesies yakni *Kleinhovia hospita* Linn, dan *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf, kedua spesies ini tergolong dalam famili

Malvaceae. *M. umbellata* (Houtt) Stapf terdiri atas dua varietas yakni *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* K. dan *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* (Nuvita, 2006).

## **2.2 Etnobotani Tumbuhan Famili Malvaceae**

Pendekatan etnobotani merupakan pendekatan berdasarkan kebiasaan masyarakat dalam memanfaatkan tumbuhan untuk mengobati penyakit yang dilakukan secara tradisional.

Tumbuhan famili Malvaceae telah lama dikenal serta dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional, misalnya *M. chamaedrys* digunakan untuk mengobati berbagai penyakit seperti kanker dan hipertensi (Dias, dkk., 2007). *M. tomentosa* digunakan sebagai obat tradisional oleh penduduk Curacao untuk mengobati kanker dan bagian akar digunakan untuk mengurangi pembengkakan (Kapadia, dkk., 1977).

Menurut Heyne (1987), di Papua New Guinea dan kepulauan Salomon, kambium dari pohon paliasa digunakan sebagai obat pneumonia dan penghilang kutu rambut. Daun paliasa secara empiris digunakan oleh masyarakat Sulawesi selatan sebagai obat penyakit kuning (hepatitis) pada umumnya, namun ada pula masyarakat yang menggunakan sebagai obat untuk kanker rahim. Bagian daun yang muda dimakan sebagai sayur, terutama pada bagian sari daun mudanya dibuat sebagai obat pencuci mata yang baik (Heyne, 1987). Kandungan kimia tumbuhan paliasa (*M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*) adalah alkaloid dan tanin. Daun tanaman ini digunakan sebagai obat penyakit kuning (Rusniati, 2001).

## **2.3 Kemotaksonomi Tumbuhan Famili Malvaceae**

Secara kemotaksonomi, spesies-spesies tumbuhan dari famili yang sama cenderung memberikan model molekul yang relatif sama. Jaringan yang paling aktif

pada tumbuhan *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* K. adalah ekstrak kayu batang dan kulit batang, hal ini di dukung oleh hasil penelitian yang telah di lakukan oleh Erwin, dkk. (2009).

Hasil yang diperoleh yaitu uji toksisitas ekstrak metanol pada bagian jaringan kulit akar, kayu akar, kulit batang, kayu batang dan daun terhadap *A. salina* dengan nilai LC<sub>50</sub> masing-masing sebesar 66,22; 37,34; 30,27; 1,80 dan 84,26 µg/mL. Beberapa golongan senyawa dapat diisolasi dari genus *Malvaceae* diantaranya senyawa golongan alkaloid, terpenoid, flavonoid, steroid, dan saponin.

#### **a. Alkaloid**

Beberapa spesies dari marga *Melochia* telah dilaporkan mengandung alkaloid melosinin dari *M. pyramidata* Linn (Breuer dkk., 1982). Senyawa alkaloid lainnya diperoleh dari *M. chamaedrys* yaitu mengandung alkaloid kuinolin yang disebut chamaedron dan alkaloid antidesmone (**3**) (Dias, dkk., 2007).

Erwin (2010) mengisolasi senyawa pada kayu batang *M. umbellata* dengan menggunakan tiga fraksi yaitu *n*-heksan, kloroform, dan etil asetat. Salah satu senyawa yang diperoleh dari isolasi tersebut yaitu 7,8-epoksi-melochinon (**4**) dan 9,10-epoksi-melochinon (**5**) yang merupakan golongan alkaloid kuinolinon dan sangat aktif terhadap *A. salina* dan sel murni leukemia P-388 dengan LC<sub>50</sub> = 0,83 µg/ml.

Gressler, dkk. (2007) telah berhasil mengisolasi senyawa alkaloid-4-quinolone dari ekstrak *n*-heksan kulit batang *W. douradinha* yaitu waltherion B (**6**) dan vanassin (**7**). Pada penelitian tersebut ditemukan pula tiga senyawa alkaloid lainnya yaitu waltherion A (**8**), antidesmon (**9**), dan O-methyltembamid (**10**).

Senyawa golongan alkaloid telah berhasil diisolasi dari ekstrak metanol daun *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* K., ketiga senyawa alkaloid tersebut diuji

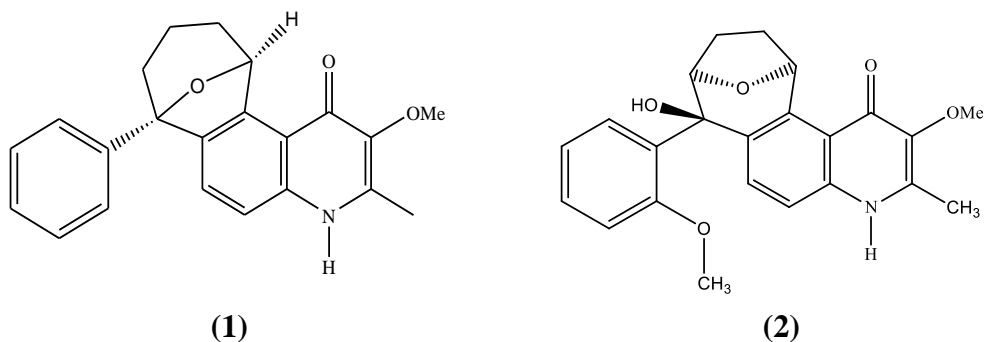


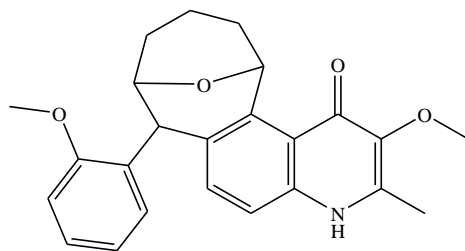
toksistasnya terhadap *A. salina* dan diperoleh  $LC_{50}$  yaitu 0,146; 1,042; dan 35,631  $\mu\text{g/mL}$  (Rahim, 2011).

Dini dan Darminto (2012) memperoleh 2 isolat dari ekstrak kloroform kulit batang *K. hospita* Linn, isolat (1) yaitu senyawa fenol, isolat (2) yaitu senyawa golongan alkaloid. Hasil uji aktivitas terhadap *A. salina* keduanya memperlihatkan toksistas cukup tinggi yaitu  $LC_{50}$  175,02  $\text{g/mL}$  dan 143,59  $\text{g/mL}$ .

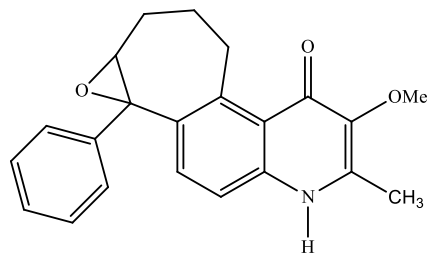
Senyawa alkaloid 4-quinolon telah diisolasi dari ekstrak metanol *M. odorata* yaitu waltherion A (11) dan waltherion C (1) yang memperlihatkan aktivitas yang signifikan sebagai anti-HIV yaitu pada konsentrasi 0,84 dan 56,2  $\mu\text{M}$  serta terhadap HIVP24 yaitu 0,95 dan 1,7  $\mu\text{M}$  (Jadulco, dkk., 2014).

Waltherion C telah berhasil pula diisolasi pada tumbuhan *M. umbellata*, yang aktif terhadap *A. salina*, serta memiliki aktivitas anti-HIV dan sitotoksitas yang signifikan terhadap sel *murine* P-388 (Erwin, 2014). Jadulco, dkk. (2014) telah berhasil mengisolasi waltherione C, dan waltherione A (2) dari *M. odorata* yang berpotensi sebagai anti-HIV yaitu pada konsentrasi 0,84 dan 56,2  $\mu\text{M}$  serta terhadap HIVP24 yaitu 0,95 dan 1,7  $\mu\text{M}$ .

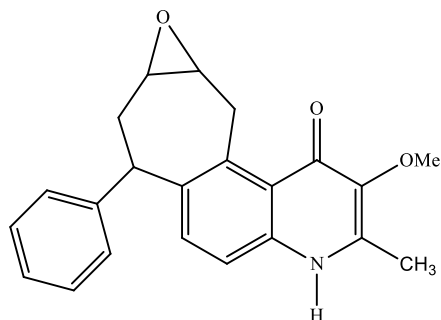




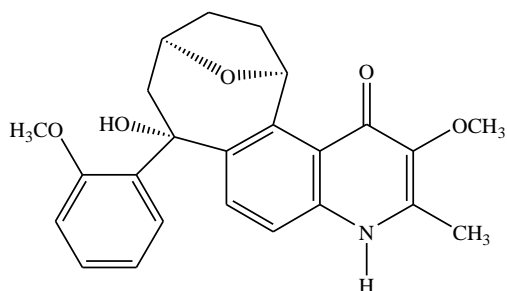
(3)



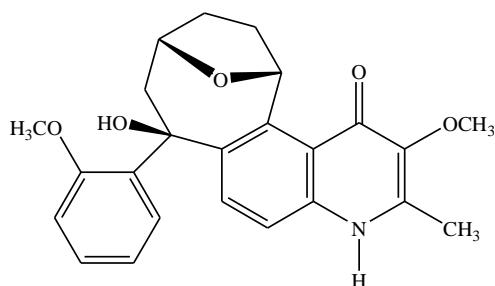
(4)



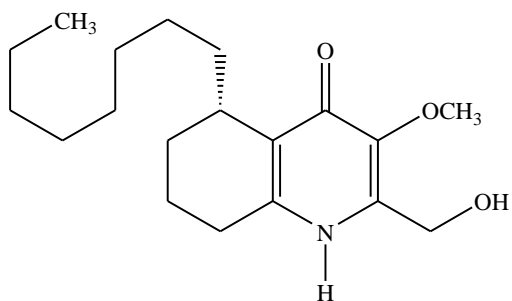
(5)



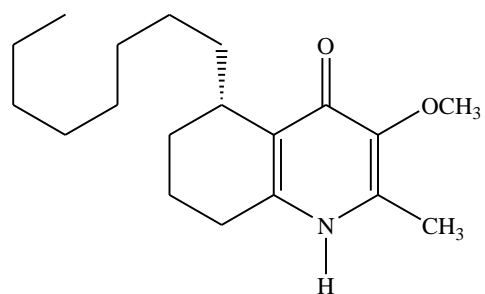
(6)



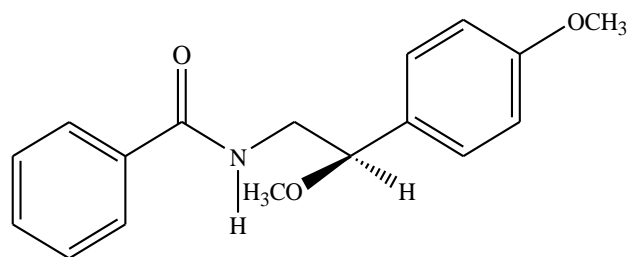
(7)



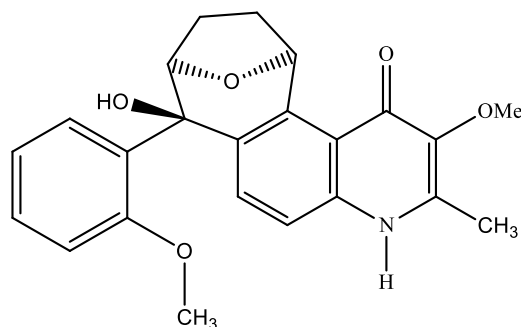
(8)



(9)



(10)



(11)

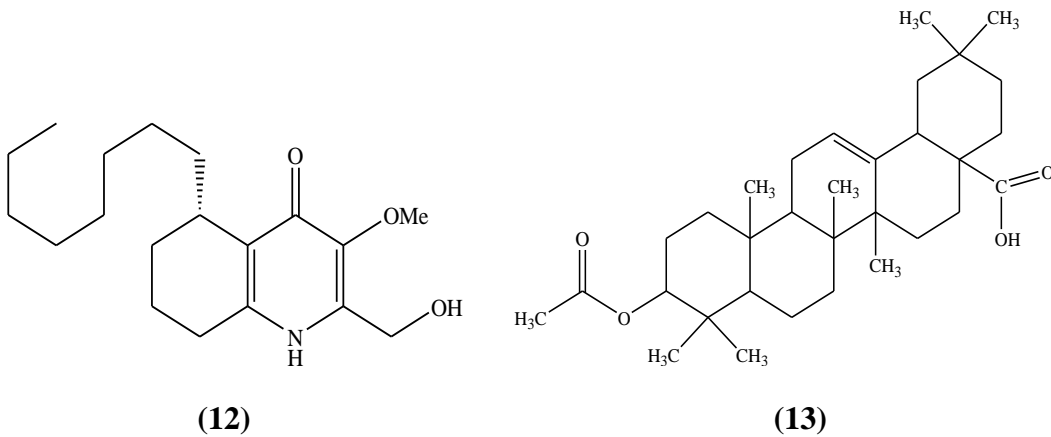
### b. Terpenoid

Fandi, 2010 telah mengisolasi senyawa terpen dari *K. hospita* Linn dan spesies tumbuhan lainnya dari famili Malvaceae yaitu 3-hidroksi-12-oleanan-28-oat (12) yang telah diisolasi dari kulit akar *K. hospita* Linn dalam ekstrak *n*-heksan.

Usman, dkk., 2014 telah mengisolasi senyawa turunan oleanan yaitu 3-asetil-12-oleanan-28-oat (13) dari fraksi *n*-heksan kulit batang *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* K., hasil uji bioaktivitas memperlihatkan bahwa senyawa tersebut bersifat toksik terhadap *A.salina* dengan  $LC_{50}$  361,93  $\mu\text{g/mL}$ , serta dapat menghambat bakteri *B. subtilis* dan jamur *C. albicans*. 3-asetoksi-12-oleanan-28-oat berhasil diisolasi dari fraksi *n*-heksan kulit akar *K. hospita* Linn yang toksik terhadap *A. salina* (Stepanus, 2011).

Soekamto, dkk., (2010) telah berhasil mengisolasi senyawa turunan oleanan dari fraksi kloroform kulit akar *K. hospita* Linn. yakni 2,3-dihidroksi-12-oleanan-28-

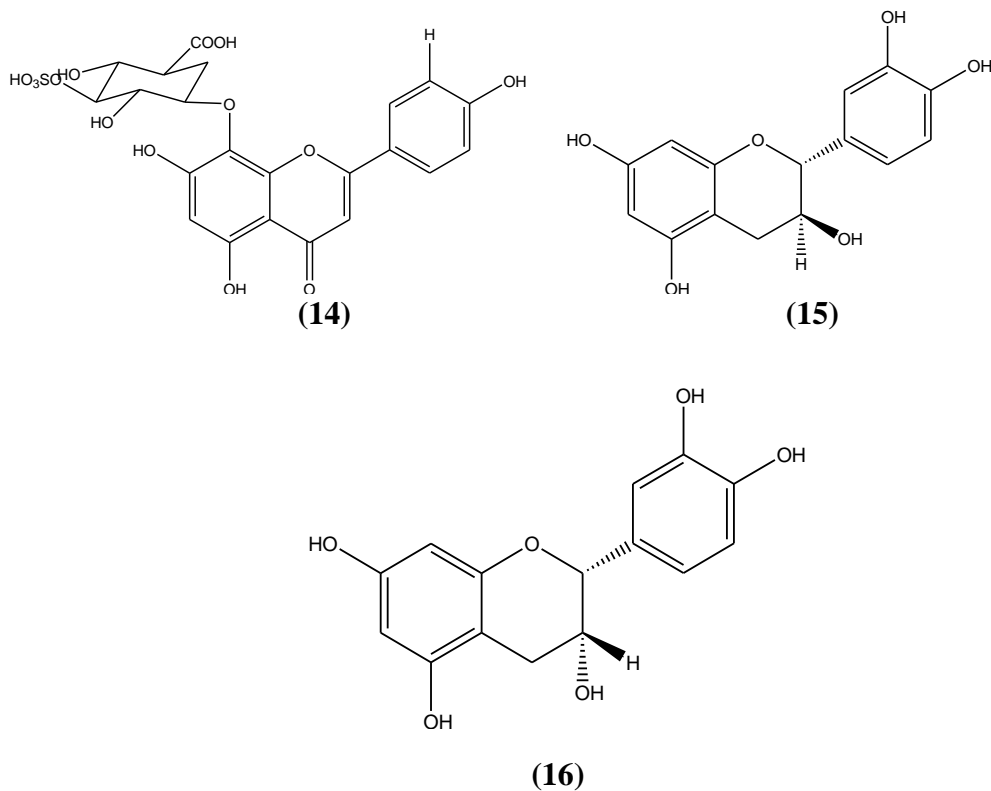
oat yang aktif terhadap *A. salina* serta aktif terhadap sel kanker P-388 dengan  $IC_{50}$  15,0  $\mu$ g/mL. 2-hydroxy-12-oleanan-28-oat yang tidak aktif terhadap *A. salina* dengan  $LC_{50}$  552,06  $\mu$ g/mL serta tidak aktif terhadap sel kanker P-388.



### c. Flavonoid

Erwin, dkk., 2014 telah berhasil mengisolasi beberapa senyawa flavonoid dari genus *Melochia* yaitu senyawa kleomiskosin dari ekstrak kloroform kayu batang *M. umbellata*, serta senyawa waltherion C (**1**) yang aktif terhadap *A. salina*, memiliki aktivitas anti-HIV dan sitotoksitas yang signifikan terhadap sel murin P-388. Senyawa flavonoid jenis teograndin I (**14**), (+)-katesin (**15**), dan juga (-)-epikatesin (**16**) telah berhasil diisolasi dari tumbuhan *Theobroma grandiflorum* (Yang, dkk., 2003).

Senyawa flavonoid yang telah diisolasi dari ekstrak metanol salah satu jenis Malvaceae yaitu *Thespesia populene* memperlihatkan hasil aktivitas antivirus yang sangat kuat yaitu  $EC_{50} = 20 \mu$ g/mL dan aktif pula sebagai antibakteri (Arthanari, dkk., 2011).



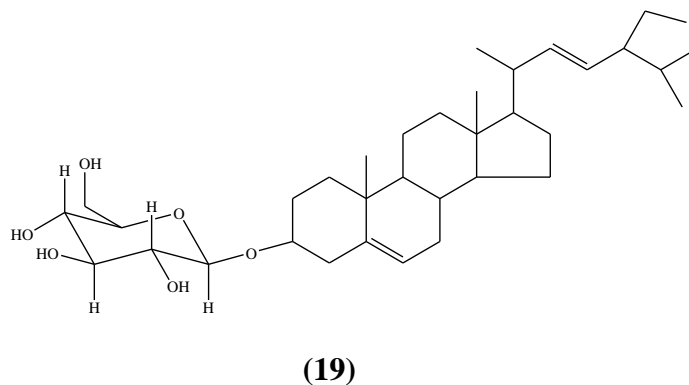
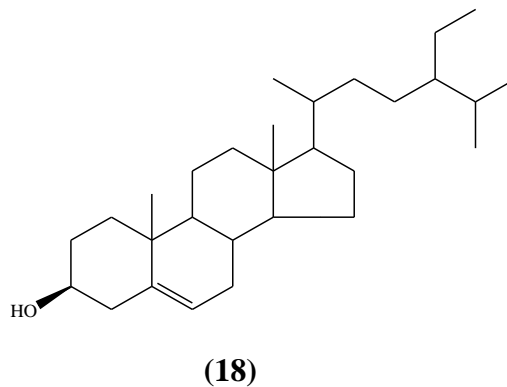
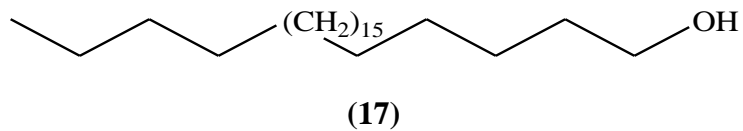
#### d. Steroid

Wullur, dkk., (2012) telah berhasil mengisolasi 1-tetrakosanol (**17**) dari ekstrak *n*-heksan daun *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. Degrabrata K. yang aktif dalam menghambat bakteri *S. aureus* dengan zona hambat sebesar 10,50 mm, 10,80 mm, 11,00 mm, dan 11,45 mm. Senyawa steroid yang diperoleh dari ekstrak etil asetat memiliki aktivitas yang sama yaitu dapat menghambat bakteri *S. dysenteriae* dengan zona hambat sebesar 9,36 mm, 11,55 mm, 11,58 mm, dan 17,70 mm.

Senyawa jenis steroid yaitu  $\beta$ -sitosterol telah berhasil diisolasi dari ekstrak *n*-heksan dan kloroform dari kulit batang *K. hospita* Linn (Soekamto, dkk., 2008, & Dini, 2005). Ahmad, dkk., (2013) mengisolasi  $\beta$ -sitosterol (**18**) dari fraksi ekstrak etil asetat daun *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. Degrabrata K. yang aktif terhadap *A. salina* dengan  $LC_{50}$  0,9517  $\mu$ g/mL. Senyawa golongan stigmasterol yaitu 5,22-stigmastadien-3 $\beta$ -ol (**19**) telah berhasil diisolasi dari ekstrak *n*-heksan kayu akar

*M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* K. dan dapat menghambat *Aspergillus niger* pada konsentrasi 200 µg/mL (Ridhay, dkk., 2012).

Senyawa golongan steroid telah berhasil diisolasi dari ekstrak kloroform daun *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* K. yang berpotensi sebagai antijamur. Akan tetapi, yang memperlihatkan zona hambat pertumbuhan jamur *Mallassezia furfur* dan jamur *Candida albicans* terbesar adalah ekstrak *n*-heksan dengan zona hambat sebesar 12,05 mm, dan 19,70 mm (Karmila, 2014).



#### e. Saponin

Daun *K. hospita* Linn mengandung saponin, kardenolin, bufadienol, dan antrakonin. Pada dosis 250 mg/kg bb, 500 mg/kg bb, 750 mg/kg bb, dan 1000 mg/kg

bb dapat menurunkan aktivitas enzim SGPT dalam darah sehingga dapat mengurangi kerusakan sel hati yang ditimbulkan oleh CCl<sub>4</sub> (Raflizar, 2006).

## 2.4 Uji Toksisitas

Uji Toksisitas merupakan uji primer untuk menentukan toksisitas suatu senyawa dan memiliki toleransi positif terhadap aktivitas anti virus. Uji toksisitas secara *in vitro* jauh lebih menguntungkan dibandingkan dengan cara *in vivo* karena pengerjaannya jauh lebih sederhana, cepat, lebih sensitif, lebih murah, dan membutuhkan sampel yang lebih sedikit. Mengingat pentingnya uji bioaktivitas terhadap isolat senyawa bahan alam, maka upaya untuk melakukan uji *bioassay* yang lebih sederhana, mudah dilakukan dan biaya yang rendah terus dilakukan. Salah satu uji yang lebih sederhana adalah dengan memanfaatkan benur udang *A. salina* yang dikenal dengan BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) (Meyer, dkk., 1982).

*Bioassay* biasanya digunakan untuk menguji adanya sifat toksik sebagai petunjuk bioaktivitas dari ekstrak atau senyawa isolat. Metode BSLT digunakan sebagai *bioassay* sederhana untuk penelitian bahan alam. Aktivitas dari senyawa aktif dapat menunjukkan sifat toksiknya terhadap benur udang *A. salina*. Fraksi yang tergolong aktif (toksik terhadap *A. salina* L.) memiliki nilai LC<sub>50</sub> <1.000 µg/mL, sedangkan fraksi yang tergolong tidak aktif (tidak toksik terhadap *A. salina* L.) memiliki nilai LC<sub>50</sub> >1.000 µg/mL (Meyer, dkk., 1982).

Menurut Siswandoyo dan Soekarjo (2000) untuk mendapatkan senyawa penuntun yang dapat digunakan sebagai acuan dalam obat dilakukan dengan penelusuran senyawa bahan alam, isolasi dan penentuan struktur, serta uji biologis dengan metode yang sesuai baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.

## 2.5 Uji Anti Virus

Penyakit DBD adalah penyakit yang ditimbulkan akibat tubuh terinfeksi virus *Dengue*, yang diakibatkan oleh *Aedes aegypti* yang mengalami peningkatan populasi terkait dengan perubahan cuaca yaitu hujan yang terjadi pada saat musim panas (Roose, 2008). Virus *dengue* ditularkan melalui nyamuk *Aedes* khususnya *Aedes aegypti* betina, penyakit DBD dapat membunuh 1 juta orang tiap tahunnya di seluruh dunia, serta 200 juta orang telah tertular.

Virus *dengue* setelah menginfeksi manusia akan berkembang di dalam peredaran darah dan akan mengaktifkan makrofag. Segera terjadi viremia selama dua hari sebelum timbul gejala dan berakhir setelah lima hari gejala panas mulai. Tubuh akan melepas antibodi yang spesifik terhadap protein dari virus *dengue*, terjadi reaksi silang antara antibodi dengan virus *dengue*, sehingga terbentuk kompleks partikel VD-antibodi anti-protein. Hal ini memudahkan virus *dengue* masuk ke dalam monosit, setelah terinfeksi virus *dengue* terjadi trombositopenia yaitu produksi trombosit turun oleh karena penekanan megakariosit sum-sum tulang (Doarest, 2010).

Terdapat berbagai genotip virus *dengue* antara lain DENV-1, DENV-2, DENV-3, dan DENV-4. Semua genotip dapat menyebabkan berbagai gejala, mulai dari infeksi ringan yang menyebabkan demam ringan pada diri sendiri *Dengue Fever* (DF) sampai pada tahap lanjutan yaitu *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF) yang dikenal dengan sebutan DBD dan *Dengue Shock Syndrome* (DSS) yang mengakibatkan banyak orang meninggal yaitu kurang lebih 50 juta kematian di seluruh dunia (WHO, 2002).

Tahap awal pengujian antivirus adalah pengkulturan sel C6/36 dan sel Vero, serta pengujian Inhibisi/penghambatan ( $IC_{50}$ ) dengan menggunakan metode *Focus*



*Formation Unit Reduction Assay* (FFURA). Prinsip kerja FFURA adalah penentuan aktivitas anti virus dengan mengukur hasil reduksi jumlah virus menggunakan standar peroksidasi berdasarkan perubahan warna yang terjadi. Umumnya penularan virus terjadi dalam jangka waktu 4 hari sebelum diamati, sehingga dapat diukur dengan menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 450 nm (Zandi, dkk., 2002).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Bahan Penelitian**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk kulit batang tumbuhan *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visena*, beberapa pelarut organik seperti metanol teknis, *n*-heksan teknis, kloroform p.a, etil asetat teknis, aseton teknis, reagen fitokimia Liebermann-Buchard, Dragendorff, Wagner, besi (III) klorida, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%, plat KLT (Merk Kieselgel 60 F254 0,25 mm), silika gel 60 (Merk, no. katalog 7733), silika gel 60 (Merk, no. katalog 7734), silika gel 60 (Merk, no. katalog 7730), NaCl laut (Sigma, no. katalog S-9883), DMSO (Merck, no. katalog 802912), telur udang *Artemia salina* Leach, DENV-2, medium MEM, *Fetal Bovin Serum* (FBS), medium MEM, Vero cell (sel ginjal monyet hijau afrika), cell line C6/36, DENV-2, *Phosphate-Buffered Saline* (PBS), 1% L-glutamine, 1,5% CMC, *tetramethylbenzidine* (TMB), NaHCO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 M.

#### **3.2 Alat Penelitian**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, blender, corong, corong pisah, corong *Buchner*, *rotary evaporator*, timbangan digital, perangkat destilasi *Vigreux*, kromatografi kolom vakum (KKV), kromatografi kolom tekan (KKT), kromatografi kolom grafitasi (KKG), mikropipet, mikroplate, tabung eppendorf, penyaring kristal, wadah penetesan, alat kromatografi lapis tipis (KLT) (chambers, pipa kapiler, pensil, *cutter*, dan mistar), dan lampu UV, mikroskop, Sementara untuk analisis spektrometri digunakan spektrometer IR dengan varian FTIR 8501 Shimadzu, JEOL JMN A 5000 yang bekerja pada 500,0 MHz untuk spektrum <sup>1</sup>H-NMR dan 125,65 MHz untuk spektrum <sup>13</sup>C-NMR, tabung konikel, flask

T25, inkubator CO<sub>2</sub>, inkubator tanpa CO<sub>2</sub>, sentrifuge 4°C, *freezer*, hemositometer, microwell plate, mikroskop inverted, ELISA *reader* (Benchmark).

### **3.3 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei 2016 – Maret 2017 dengan tempat penelitian di Laboratorium Kimia Organik, Laboratorium Kimia Terpadu, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin Makassar, Laboratorium Spektroskopi Massa dan NMR Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Bandung, Laboratorium *Dengue* Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga.

### **3.4 Prosedur Penelitian**

#### **3.4.1 Pengumpulan Bahan Tumbuhan**

Kulit batang tumbuhan *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* diperoleh dari desa Baring kabupaten Pangkep, Sulawesi Selatan. Spesimen tumbuhan diidentifikasi oleh Keragaman Flora Indonesia Kerukunan Keluarga Sereale (KKS) Makassar.

#### **3.4.2 Isolasi**

Sebanyak 5 kg serbuk kering kulit batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* dimaserasi dengan *n*-heksan selama 1 x 24 jam sebanyak 5 kali, dan disaring. Maserat yang diperoleh kemudian dievaporasi, dikering anginkan, dan dianalisis KLT. Selanjutnya, ekstrak *n*-heksan di uji fitokimia dan diuji bioaktivitasnya terhadap virus *dengue* (DENV-2). Ekstrak *n*-heksan difraksinasi melalui Kromatografi Kolom Vakum (KKV), proses fraksinasi diawali dengan pencarian eluen, syarat eluen yang baik digunakan adalah eluen yang memperlihatkan noda dengan nilai R<sub>f</sub> 0,3 pada kromatografi melalui analisis KLT. Campuran eluen yang baik digunakan dan memenuhi syarat adalah EtOAc : *n*-heksan

(7,5:92,5). Peningkatan variasi kepolaran yang digunakan sebagai eluen KKV yaitu *n*-heksan, *n*-heksan : etil asetat, aseton, dan metanol. Terdapat 21 fraksi yang diperoleh dari hasil KKV, fraksi-fraksi yang memiliki nilai  $R_f$  yang sama digabung sehingga diperoleh 5 fraksi gabungan yaitu A(F<sub>3</sub>,F<sub>4</sub>); B(F<sub>5</sub>,F<sub>6</sub>,F<sub>7</sub>); C(F<sub>8</sub>,F<sub>9</sub>,F<sub>10</sub>); D(F<sub>11</sub>,F<sub>12</sub>); E(F<sub>13</sub>,F<sub>14</sub>,F<sub>15</sub>) yang selanjutnya diuji BSLT, fraksi aktif yang diperoleh yaitu fraksi C dan fraksi D.

Padatan fraksi C dicuci dengan metanol pekat, selanjutnya hasil pencucian yang diperoleh dianalisis KLT lebih lanjut sehingga memperlihatkan dua noda yaitu satu noda di UV *long* dan satu noda setelah disemprotkan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%, dilanjutkan dengan kristalisasi dan rekristalisasi isolat menggunakan sistem dua pelarut yaitu aseton dan methanol. Isolat yang diperoleh diuji fitokimia dan dilakukan identifikasi struktur.

Fraksi D difraksinasi lebih lanjut dengan menggunakan Kolom Kromatografi Tekan (KKT) dengan eluen *n*-heksan, EtOAc : *n*-heksan (3:9), aseton dan metanol. Terdapat 7 fraksi yang diperoleh yaitu D<sub>8</sub>, D<sub>9</sub>, D<sub>10</sub>, D<sub>11</sub>, D<sub>12</sub>, D<sub>15</sub>, D<sub>16</sub>. Padatan fraksi D<sub>8</sub> dianalisis KLT lebih lanjut sehingga memperlihatkan dua noda yaitu satu noda di UV *short* dan satu noda di UV *long*, kedua noda bertumpuk, dilanjutkan dengan kristalisasi dan rekristalisasi isolat yang dilakukan dengan menggunakan sistem dua pelarut yaitu EtOAc dan *n*-heksan. Isolat yang diperoleh diuji fitokimia dan dilakukan identifikasi struktur. Padatan fraksi D<sub>10</sub> difraksinasi melalui kromatografi kolom tekan (KKT) dengan eluen *n*-heksan, CHCl<sub>3</sub> : *n*-heksan (9:1), aseton dan methanol, sehingga diperoleh 4 fraksi. Fraksi 3 dan 4 memiliki nilai  $R_f$  yang sama, akan tetapi setelah dielusi dengan tingkat pelarut yang berbeda diperoleh fraksi 3 memiliki dua noda sedangkan fraksi 4 memiliki satu noda yang dapat diartikan bahwa fraksi 4 telah murni. Fraksi 3 dilanjutkan dengan menggunakan Kolom Kromatografi Tekan (KKT), sehingga diperoleh isolat murni. Isolat fraksi 3 dan 4 sama sehingga hasil isolat keduanya digabung, Isolat yang diperoleh diuji fitokimia dan dilakukan identifikasi struktur.

### 3.4.3 Uji Fitokimia

Dilakukan uji fitokimia yaitu uji flavonoid, alkaloid, steroid, terpenoid terhadap senyawa I, II, III dan ekstrak *n*-heksana kulit batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visena*. Pengujian flavonoid menggunakan serbuk Mg yang ditambahkan dengan amil alkohol, pengujian alkaloid menggunakan pereaksi Dragendorf (0,8 g Bi(NO<sub>3</sub>) ditambahkan 10 mL CH<sub>3</sub>COOH dan 40 mL air, selanjutnya dicampurkan dengan larutan yang dibuat dari 8 g KI dalam 0 mL air), pereaksi Wegner (2,5 g iodin ditambahkan 2 g KI dan 10 mL air lalu diencerkan dengan akuades hingga menjadi 200 mL, pereaksi Meyer (1,36 g HgCl<sub>2</sub> ditambahkan 0,5 g KI dilarutkan dan diencerkan dengan akuades menjadi 100 mL). Pengujian steroid dan terpenoid menggunakan 10 tetes anhidrida asetat dan 3 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

### 3.4.4 Identifikasi

Isolat tunggal yang diperoleh diuji kemurniannya melalui analisis KLT dengan menggunakan tiga macam sistem eluen, KLT dua dimensi dan pengukuran titik leleh. Penentuan golongan isolat tunggal dilakukan melalui uji fitokimia. Elusidasi struktur isolat melalui analisis data spektroskopi FT-IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, HMBC, HSQC, dan COSY.

### 3.4.5 Uji Toksisitas

Fraksi yang diperoleh dari hasil Kromatografi Kolom Vakum (KKV) diuji toksisitasnya terhadap *Artemia salina* L. (**Lampiran 3**).

### 3.4.6 Uji Anti *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF)

Uji Anti DHF (*Dengue Hemorrhagic Fever*) dilakukan dengan menggunakan metode *Focus Formation Unit Reduction Assay* (FFURA) untuk mengetahui IC<sub>50</sub> (*Inhibition Concentration* 50%) pada ekstrak isolat yang diperoleh dan metode

*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA reader). Tahapan pengujian bioaktivitas ekstrak terhadap virus *dengue* antara lain:

#### **A. Kultur Cell line Vero**

Cell line ditambahkan pada medium MEM (Gibco) yang ditambahkan nutrisi berupa 10% fetal Bovine Serum (FBS), 1% L-glutamine, yang diinkubasi pada suhu 37°C pada kondisi CO<sub>2</sub> 5%. Sel Vero diambil dari penyimpanan dalam *freezer*. Kemudian diencerkan pada suhu ruangan selama 2-3 menit. Sel di dalam *cryovial* dipindahkan ke dalam tabung konikal steril berisip 5 mL MEM free, kemudian disentrifugasi 800 rpm selama 5-10 menit dan supernatannya dibuang. Pelet ditambahkan 5 mL Media kultur, diresuspensi perlahan, kemudian sel dipindahkan pada flask T25, diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> pada suhu 37°C dan 5% CO<sub>2</sub>. Medium diganti setelah 72 jam dan sel dibiarkan tumbuh kembali sampai konfluen (memenuhi flask). Sel yang sudah konfluen dipanen, dengan cara medium dalam flask dibuang dan sel dicuci dengan 1 X PBH sebanyak 2 kali dengan cara dibilas perlahan. Sel dalam flask ditambahkan larutan tripsin 0,25% sebanyak 0,5 mL, diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> pada suhu 37° dan 5% kemudian disentrifugasi 800 rpm selama 5-10 menit.

#### **B. kultur Cell line C6/36**

Cell line C6/36 dikultur pada medium MEM yang ditambahkan nutrisi berupa 10% fetal Bovine Serum (FBS), 1% L-glutamine, yang diinkubasi pada suhu 28°C. Sel C6/36 diambil dari penyimpanan dalam freezer -80°C kemudian dicairkan pada suhu ruang. Sel di dalam *cryovial* dipindahkan ke dalam tabung konikal 15 mL, ditambahkan medium MEM free sampai 5 atau 10 mL, kemudian disentrifugasi 800 rpm selama 5-10 menit dan supernatannya dibuang. Pelet ditambahkan 5 mL medium kultur, diresuspensi perlahan, kemudian sel dipindahkan pada flask T25 cm<sup>3</sup>, diinkubasi pada suhu 28 °C.

Medium diganti setelah 72 jam dan sel dibiarkan tumbuh kembali sampai konfluen (memenuhi permukaan flask). Sel yang sudah konfluen dipanen, dengan cara medium dalam flask dibuang dan sel dicuci dengan 1 X PBS sebanyak 2 kali dengan cara dibilas perlahan. Sel dalam flask ditambahkan larutan tripsin 0,25% sebanyak 0,5 mL, diinkubasi pada suhu

28°C atau suhu ruang selama 3 menit kemudian ditambah sampai 5 atau 10 mL medium kemudian disentrifugasi 800 rpm selama 5-10 menit. Selanjutnya sel tersebut ditumbuhkan sampai konfluen.

### **C. Pembuatan Stok Virus pada Cell Lines C6/36**

Cell lines C6/36 digunakan untuk memperbanyak virus DENV-2 (Pembuatan stok) dengan cara tambahkan 400  $\mu$ L virus dari stok sebelumnya yang telah diencerkan dengan medium MEM (yang mengandung FBS 2%, 1% L-glutamine) sampai 1 mL ke dalam flask yang berisi sel C6/36 kemudian dikocok, selanjutnya diinkubasi pada suhu 28 °C . Setiap 15-20 menit (Selama 1 jam) dikocok perlahan, setelah 1 jam ditambahkan medium MEM (dengan nutrien 2% FBS) 5 mL kemudian diinkubasi sampai terlihat efek sitopatik secara perlahan, selanjutnya disentrifugasi 4000 xg 4°C selama 10 menit, kemudian supernatan virus (stok virus) disimpan pada suhu -80 °C.

### **D. Pembuatan Stok Virus pada Cell Line Vero**

Stok virus hasil infeksi sel C6/36 kemudian diinfeksi lagi pada sel Vero dalam flask yaitu dengan cara tambahkan 50  $\mu$ L virus yang telah diencerkan dengan 1 mL medium MEM (yang mengandung FBS 2%, 1% L-glutamine) kemudian dikocok, selanjutnya diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> pada suhu 37°C dan 5% CO<sub>2</sub>. Setiap 15-20 menit (Selama 1 jam) dikocok perlahan, setelah 1 jam ditambahkan medium MEM (dengan nutrien 2% FBS) sebanyak 5 mL kemudian diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> pada suhu 37°C dan 5% CO<sub>2</sub> sampai terlihat efek sitopatik (7 hari). Supernatan dipanen dengan cara dipindahkan secara perlahan, selanjutnya disentrifugasi 4000 xg 4°C selama 10 menit, kemudian supernatan virus (stok virus) disimpan pada suhu -80°C.

### **E. Focus Formation Unit Reduction Assay**

Aktivitas anti virus dari ekstrak ditentukan dengan mengukur hasil reduksi jumlah virus melalui *foci*. Supernatan dari sel Vero diletakkan dalam 24 lubang mikropate, selama proses penularan virus dalam sel ditambahkan 1,5% CMC dan FBS 2% ke dalam medium

MEM. Diamati virus hasil reduksi menggunakan standar peroksidasi berdasarkan perubahan warna. Selama 4 hari setelah penularan jumlah DENV-2 dihitung menggunakan stroomikroskop dan titer virus dihitung sebagai Foci-Forming-Unit (FFU).

#### **F. ELISA reader**

Plat ELISA dilapisi oleh antigen dengan pengenceran optimum (1:1000) dengan menggunakan bufer  $\text{NaHCO}_3$  (pH 9,6), diinkubasikan pada suhu kamar selama semalam pada suhu 4°C atau 2 jam pada suhu 37 °C. Plat kemudin dicuci dengan phosphate buffer solution (PBS) 0,05% sebanyak 3 kali lalu tambahkan blocker 200  $\mu\text{l}$ . Plat diinkubasikan kembali pada suhu kamar selama 2 jam dan cuci kembali dengan PBS sebanyak 3 kali. Pada saat inkubasi, serum kontrol positif dan negatif diencerkan dalam PBS bergelatin 1%, dan dimasukkan 100  $\mu\text{l}$  pada plat yang telah dicuci. Plat diinkubasikan pada suhu 37 °C selama 2 jam dan cuci kembali dengan PBS sebanyak 3 kali. Selanjutnya, ditambahkan 100  $\mu\text{l}$  substrat *tetramethylbenzidine* (TMB), lalu diinkubasikan pada ruang gelap selama 10 menit, dan stop reaksi dilakukan dengan larutan asam sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 0,1 M sebanyak 100  $\mu\text{l}$ . Hasil pemeriksaan dibaca pada ELISA reader dengan panjang gelombang 450 nm. Sebagai pembanding, digunakan ELISA kit yang diperoleh dari *Virology Laboratory Elizabeth Macarthur Agriculture Institute* (EMAI), Woodbridge Rd. Menangle, NSW, Australia.



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Hasil Penelitian

##### 4.1.1 Maserasi dan Uji Fitokimia Ekstrak

Maserat yang diperoleh dari hasil maserasi ekstrak *n*-heksan kulit batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* berwarna kuning kehitaman dengan bobot sebesar 4,51 g. Uji fitokimia terhadap ekstrak *n*-heksan menghasilkan data seperti yang terlihat pada Tabel 1.

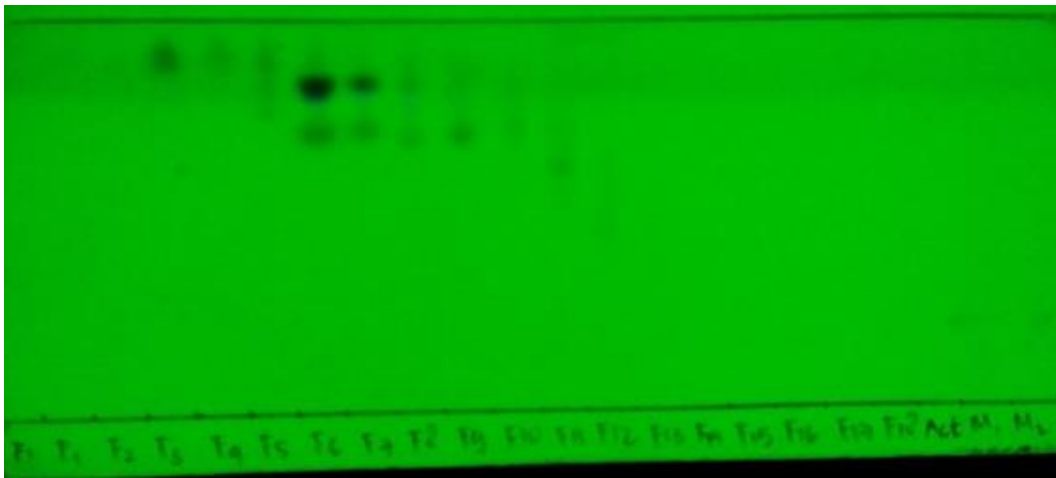
**Tabel 1.** Hasil uji fitokimia ekstrak *n*-heksan kulit batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*.

No	Uji	Pereaksi	Hasil Uji
1.	Steroid	Pereaksi Lieberman-Burchard	(+), terdapat perubahan warna biru
2.	Terpenoid	Pereaksi Lieberman-Burchard	(+), perubahan warna merah
3.	Alkaloid	Dragendorff	(-), tidak terdapat endapan merah-jingga
		Wegner	(+), terdapat endapan coklat
		Meyer	(+), terdapat endapan putih kekuningan
4.	Flavonoid	Serbuk Mg + amil alkohol	(-), tidak terbentuk warna merah, kuning, atau jingga

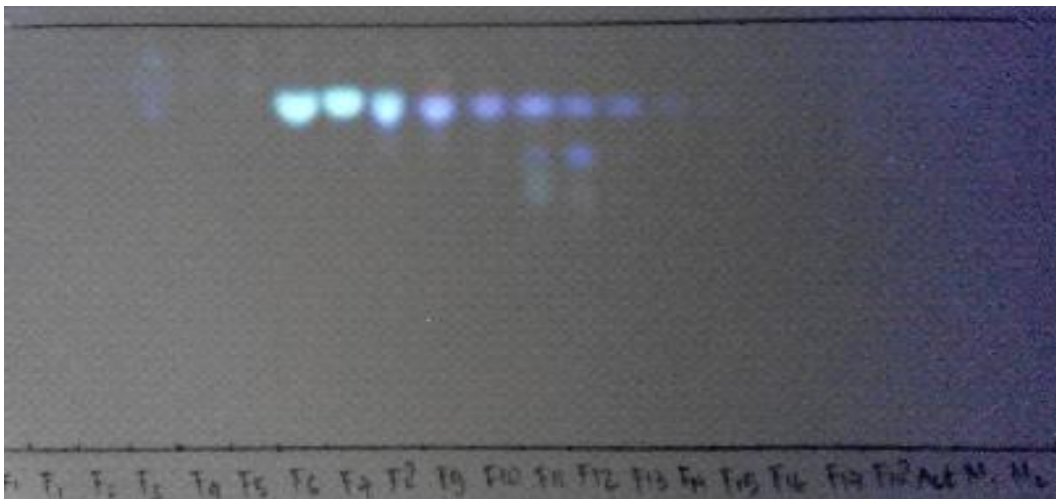
Data Tabel 1 menunjukkan bahwa metabolit sekunder yang pada terdapat ekstrak *n*-heksan yaitu senyawa steroid, terpenoid, dan alkaloid. Akan tetapi pada uji alkaloid dengan menggunakan pereaksi Dragendorff tidak memperlihatkan hasil yang positif, hal ini disebabkan pereaksi Dragendorff tidak sensitif terhadap ekstrak *n*-heksan. Senyawa yang tidak terdapat pada ekstrak *n*-heksan adalah flavonoid.

#### 4.1.2 Fraksinasi dan Pemurnian

Tahap awal untuk mendapatkan senyawa murni dilakukan melalui metode kromatografi. Ekstrak *n*-heksan sebanyak 4,51 g difraksinasi melalui Kromatografi Kolom Vakum (KKV). Pada tahap ini diperoleh 21 fraksi (Gambar 2), dan fraksi-fraksi yang memiliki nilai  $R_f$  yang sama selanjutnya digabung sehingga diperoleh 5 fraksi gabungan yaitu A(F<sub>3</sub>,F<sub>4</sub>); B(F<sub>5</sub>,F<sub>6</sub>,F<sub>7</sub>); C(F<sub>8</sub>,F<sub>9</sub>,F<sub>10</sub>); D(F<sub>11</sub>,F<sub>12</sub>); E(F<sub>13</sub>,F<sub>14</sub>,F<sub>15</sub>) (Gambar 3).

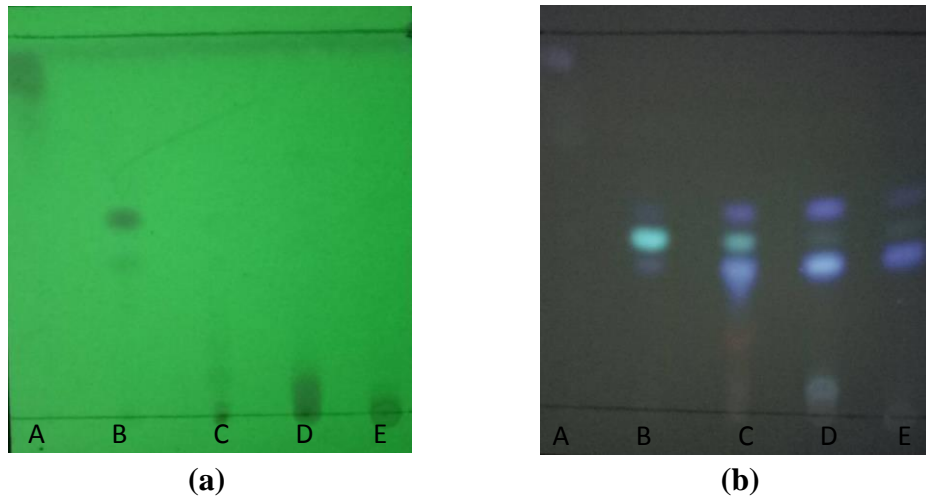


(a)



(b)

**Gambar 2.** (a) Kromatogram ekstrak *n*-heksan hasil fraksinasi KKV (dibawah UV *short wave*)  
(b) Kromatogram ekstrak *n*-heksan hasil fraksinasi KKV (dibawah UV *long wave*)



**Gambar 3.** Kromatogram fraksi gabungan

Berat dari masing-masing fraksi yang diperoleh yaitu 1.338,50 mg (Fraksi A), 2.178,70 mg (Fraksi B), 3.522,80 mg (Fraksi C), 359,80 mg (Fraksi D), 1.355 mg (Fraksi E). Penentuan fraksi aktif dan tidak aktif masing-masing fraksi gabungan didasarkan pada nilai toksisitas ( $LC_{50}$ ) yang diperoleh dari metode BSLT di perlihatkan pada Tabel 2.

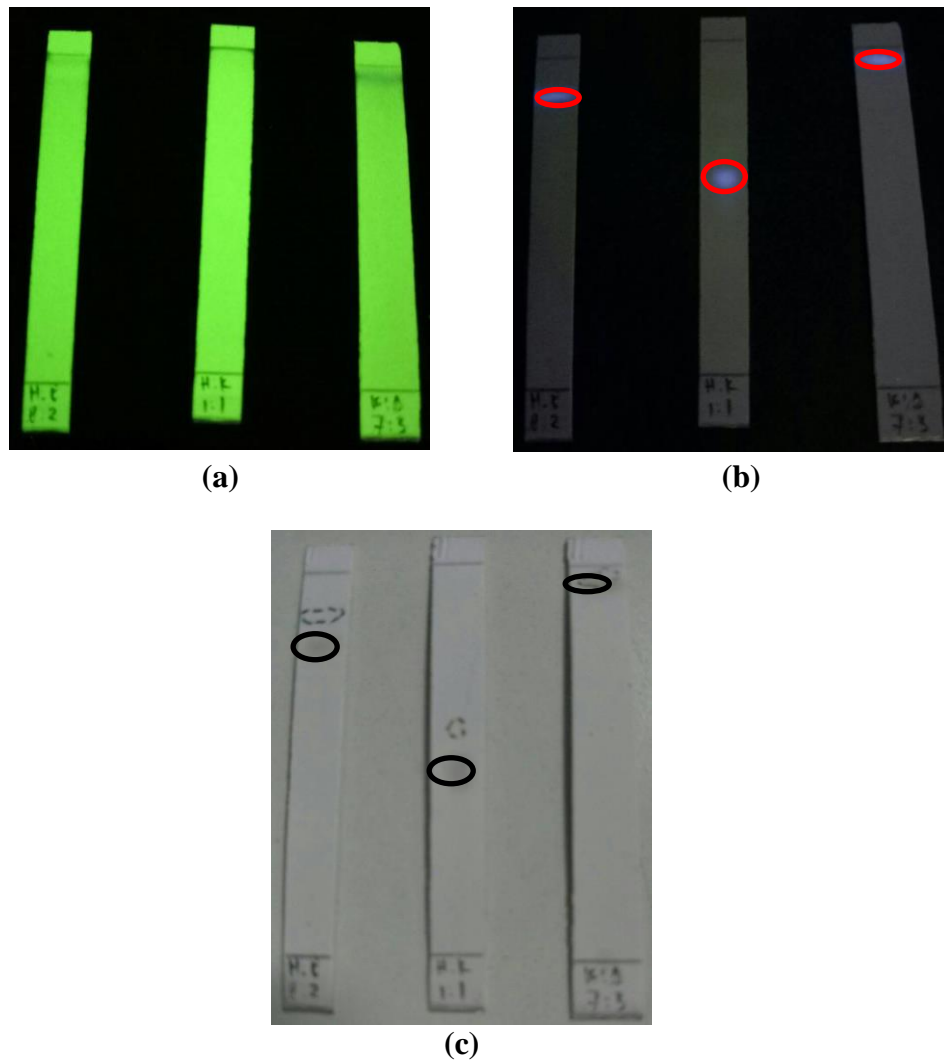
**Tabel 2.** Hasil uji toksisitas ( $LC_{50}$ ) fraksi gabungan.

Fraksi	Nilai Toksisitas ( $LC_{50}$ ) ( $\mu\text{g/mL}$ )
A	>1000
B	>1000
C	725,68
D	109,59
E	>1000

Keterangan: Fraksi dengan nilai  $LC_{50} < 1.000 \mu\text{g/mL}$  bersifat toksik (fraksi aktif) dan fraksi dengan nilai  $LC_{50} > 1.000 \mu\text{g/mL}$  bersifat tidak toksik (fraksi tidak aktif) (Meyer, ddk., 1982).

Berdasarkan hasil uji toksisitas yang diperoleh dari fraksi gabungan, maka dapat disimpulkan bahwa fraksi yang tergolong dalam fraksi aktif adalah fraksi C dan D, sedangkan fraksi yang tergolong dalam fraksi non aktif adalah fraksi A, B, dan E. Hal ini didukung oleh hasil  $LC_{50}$  dari masing-masing fraksi.

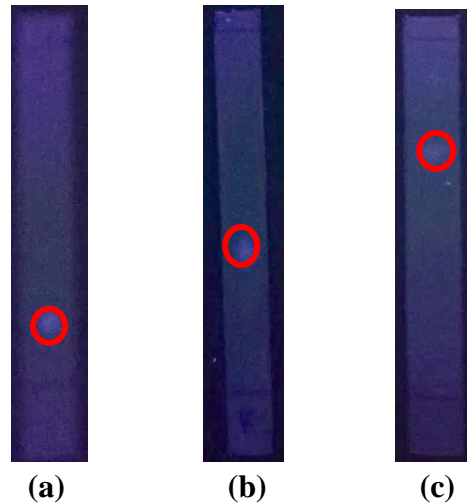
**Fraksi C.** Padatan fraksi C berwarna hijau dengan berat 3.522,80 mg dicuci dengan metanol pekat, sehingga diperoleh kromatogram (Gambar 11).



**Gambar 10.** Kromatogram hasil analisis setelah pencucian (a) dibawah UV *short wave*, (b) dibawah UV *long wave*, (c) setelah disemprot  $H_2SO_4$  10%.

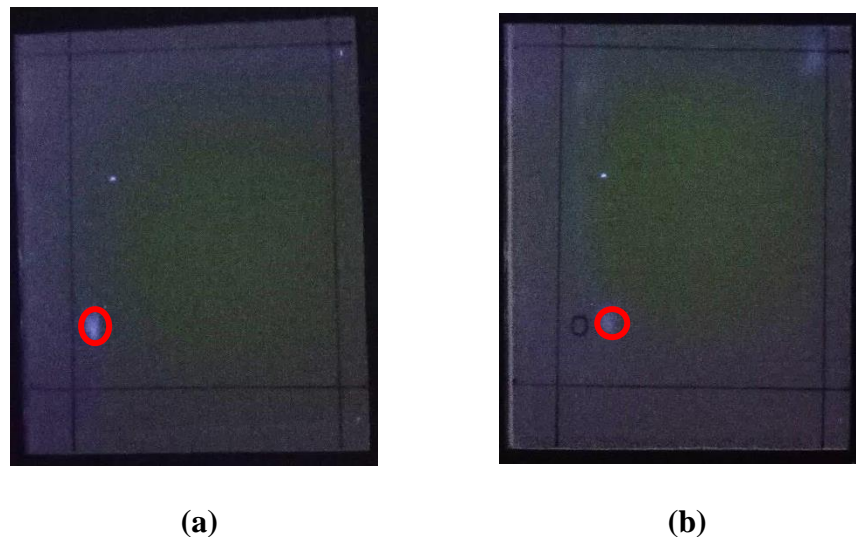
Dilanjutkan dengan kristalisasi dan rekristalisasi kristal dengan menggunakan sistem dua pelarut yaitu aseton dan metanol menghasilkan kristal yang berwarna

putih dan berbentuk selebaran dengan berat 51 mg yang kemudian diuji kemurnian melalui analisis KLT menggunakan tiga macam sistem eluen, serta KLT dua dimensi dengan menggunakan eluen  $\text{CHCl}_3/n$ -heksan (4:3).



- (a) Aseton : *n*-heksan (0,25:9,75) ( $R_f = 0,2$ )
- (b)  $\text{CHCl}_3$  ( $R_f = 0,5$ )
- (c) EtOAc : *n*-heksan (0,5:9,5) ( $R_f = 0,72$ )

**Gambar 11.** Kromatogram hasil analisis KLT kristal fraksi C



**Gambar 12.** Kromatogram hasil analisis KLT dua dimensi kristal fraksi C

Kromatogram hasil dari analisis KLT tiga sistem eluen serta hasil dari analisis KLT dua dimensi memperlihatkan noda tunggal yang mengindikasikan

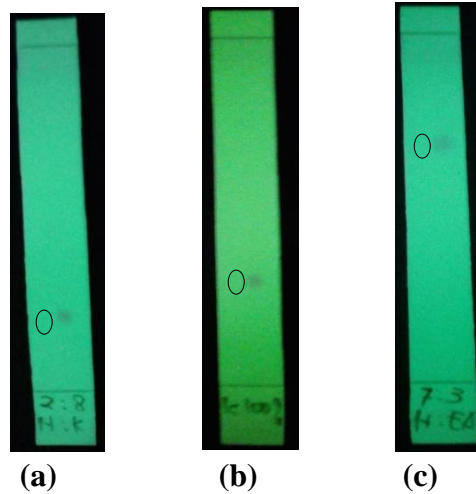
bahwa kristal fraksi C merupakan isolat murni dan dinyatakan sebagai senyawa III dengan hasil analisis titik leleh diperoleh 144-145°C. Uji fitokimia menggunakan pereaksi Wegner memberikan endapan coklat, sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa III merupakan senyawa golongan alkaloid.

**Fraksi D.** Padatan fraksi D berwarna hijau dengan berat 359,80 mg difraksinasi melalui Kolom Kromatografi Tekan (KKT). Hasil fraksinasi diperoleh 7 fraksi yang memiliki berat masing-masing 21 mg (D<sub>8</sub>), 28,7 mg (D<sub>9</sub>), 62,5 mg (D<sub>10</sub>), 33,2 mg (D<sub>11</sub>), 14 mg (D<sub>12</sub>), 12,8 mg (D<sub>15</sub>), 6,8 mg (D<sub>16</sub>) (Gambar 4).



**Gambar 4.** Kromatogram hasil analisis KLT fraksi D

**Fraksi D<sub>8</sub>.** Padatan fraksi D<sub>8</sub> berwarna hijau muda seberat 21 mg, selanjutnya dikristalisasi dan rekristalisasi dengan menggunakan sistem dua pelarut yaitu EtOAc dan *n*-heksan menghasilkan kristal yang berwarna putih dan berbentuk jarum dengan berat 2 mg yang kemudian diuji kemurnian melalui analisis KLT menggunakan tiga macam sistem eluen, serta KLT dua dimensi dengan menggunakan eluen CHCl<sub>3</sub>/*n*-heksan (8:2).

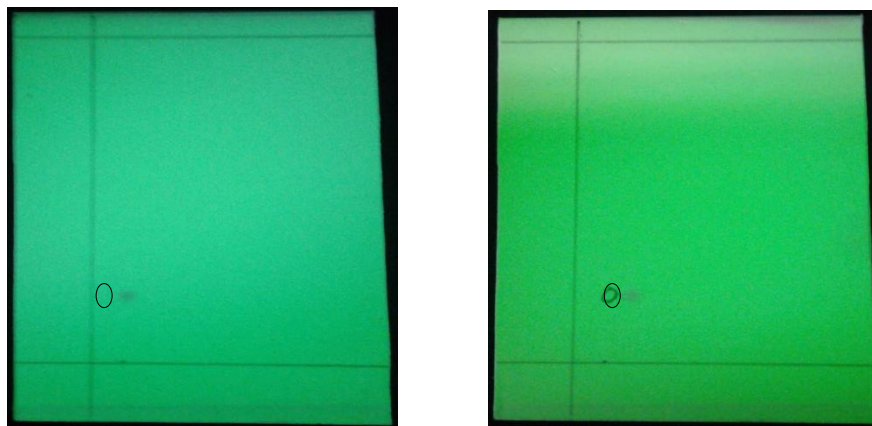


(a)  $\text{CHCl}_3$  : *n*-heksan (8:2) ( $R_f = 0,23$ )

(b)  $\text{CHCl}_3$  ( $R_f = 0,30$ )

(c) EtOAc : *n*-heksan (7:3) ( $R_f = 0,69$ )

**Gambar 5.** Kromatogram hasil analisis KLT kristal fraksi  $D_8$



**Gambar 6.** Kromatogram hasil analisis KLT dua dimensi kristal fraksi  $D_8$

Kromatogram hasil dari analisis KLT tiga sistem eluen serta hasil dari analisis KLT dua dimensi memperlihatkan noda tunggal yang mengindikasikan bahwa kristal fraksi  $D_8$  merupakan isolat murni dan dinyatakan sebagai senyawa I. Uji golongan menggunakan pereaksi Wegner memberikan endapan coklat, sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa I merupakan senyawa golongan alkaloid.

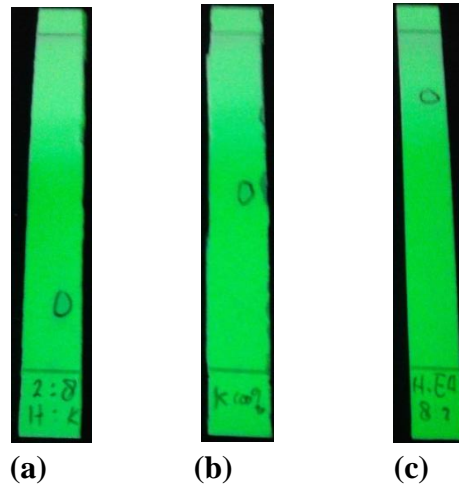
**Fraksi D<sub>10</sub>.** Padatan fraksi D<sub>10</sub> yang merupakan campuran serbuk putih dan padatan berwarna kuning dengan berat 62,5 mg difraksinasi melalui Kromatografi Kolom Tekan (KKT). Hasil fraksinasi diperoleh 4 fraksi (Gambar 7).



**Gambar 7.** Kromatogram hasil analisis KLT fraksi D<sub>10</sub>

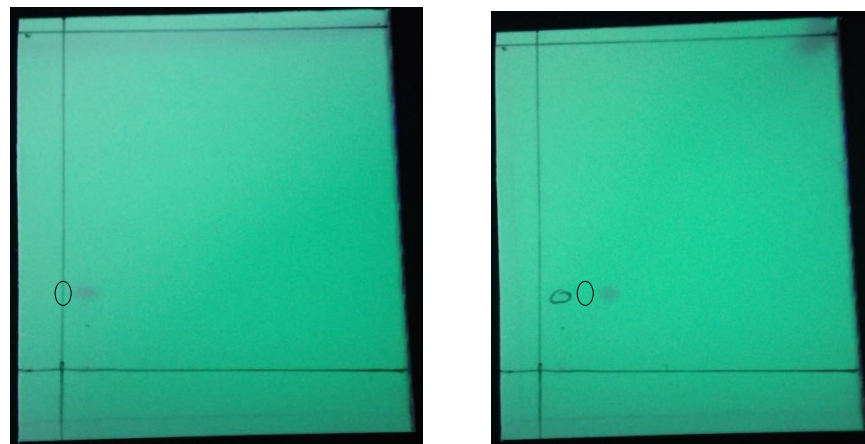
Kromatogram hasil analisis KLT fraksi D<sub>10</sub> diperoleh fraksi 3 dan 4 memiliki nilai R<sub>f</sub> sama. Berat kristal yang diperoleh pada fraksi 4 yaitu 1,2 mg, karena memiliki bobot yang sangat sedikit sehingga dilanjutkan dengan Kolom Kromatografi Tekan (KKT) fraksi 3 yang diharapkan dapat menambah bobot kristal yang telah diperoleh. Kristal yang dihasilkan berwarna putih dan berbentuk serbuk, dengan bobot total kristal sebesar 2,2 mg. Diuji kemurnian melalui analisis KLT menggunakan tiga macam sistem eluen, serta KLT dua dimensi dengan menggunakan eluen CHCl<sub>3</sub>.





- (a)  $\text{CHCl}_3$  : n-heksan (8:2) ( $R_f = 0,20$ )  
 (b)  $\text{CHCl}_3$  ( $R_f = 0,53$ )  
 (c) EtOAc : n-heksan (2:8) ( $R_f = 0,78$ )

**Gambar 8.** Kromatogram hasil analisis KLT kristal fraksi  $D_{10}$

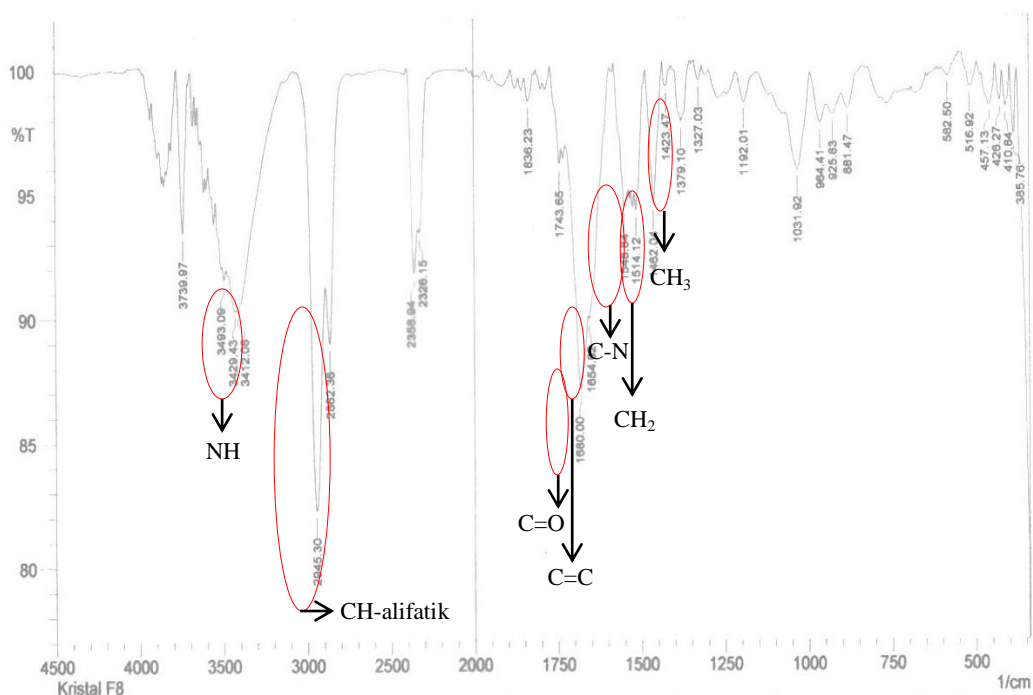


**Gambar 9.** Kromatogram hasil analisis KLT dua dimensi kristal fraksi  $D_{10}$

Kromatogram hasil dari analisis KLT tiga sistem eluen serta hasil dari analisis KLT dua dimensi memperlihatkan noda tunggal yang mengindikasikan bahwa kristal fraksi  $D_{10}$  merupakan isolat murni dan dinyatakan sebagai senyawa II. Uji fitokimia menggunakan pereaksi Wegner memberikan endapan coklat, sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa II merupakan senyawa golongan alkaloid.

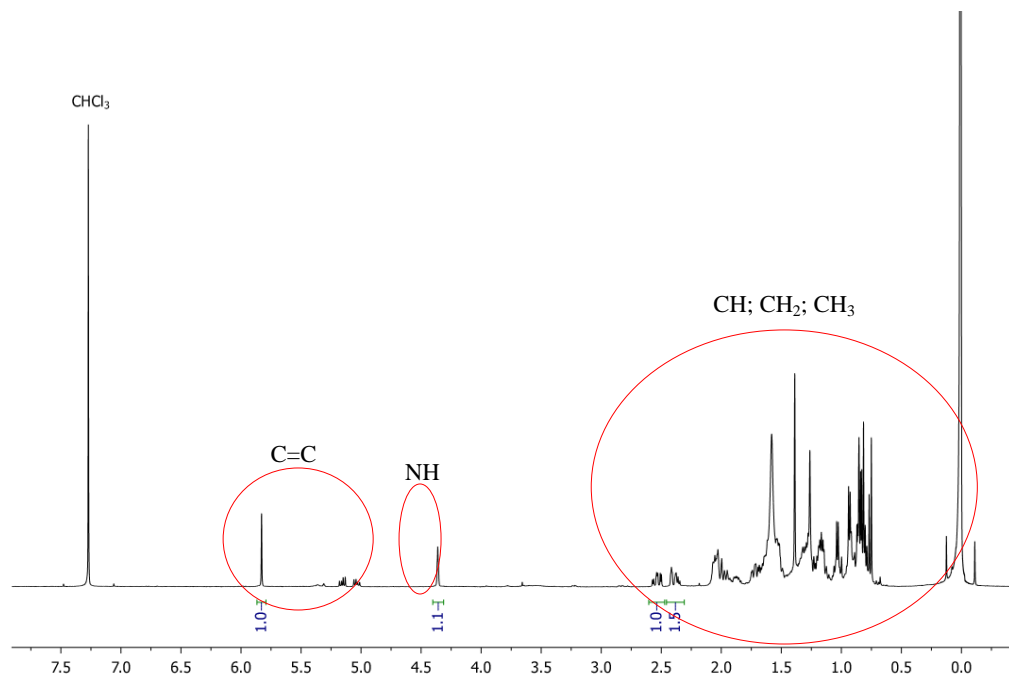
## 4.2 Analisis Data Spektroskopi

### 4.2.1 Spektroskopi FT-IR dan NMR Senyawa I



**Gambar 13.** Spektrum FT-IR senyawa I

Berdasarkan hasil uji fitokimia bahwa senyawa I adalah alkaloid, diperkuat dengan data spektrum FT-IR yang memperlihatkan keberadaan gugus NH pada bilangan gelombang  $3429,43 \text{ cm}^{-1}$ . Serapan ini didukung dengan adanya pita serapan pada bilangan gelombang  $1548,84$  dan  $1514,12 \text{ cm}^{-1}$  yang menunjukkan adanya gugus C-N amida. Pita serapan pada bilangan gelombang  $2945,30$  dan  $2862,36 \text{ cm}^{-1}$  mengindikasikan adanya gugus C-H  $\text{sp}^3$  yang diperkuat dengan munculnya pita serapan pada bilangan gelombang  $1462,04 \text{ cm}^{-1}$  yang mengindikasikan gugus  $\text{CH}_2$  (metilen) serta pita serapan pada bilangan gelombang  $1379,10 \text{ cm}^{-1}$  yang mengindikasikan gugus  $\text{CH}_3$  (metil), muncul pita serapan pada bilangan gelombang  $1680 \text{ cm}^{-1}$  mengindikasikan gugus C=O. Pita serapan pada bilangan gelombang  $1654,82 \text{ cm}^{-1}$  mengindikasikan gugus C=C (olefin).



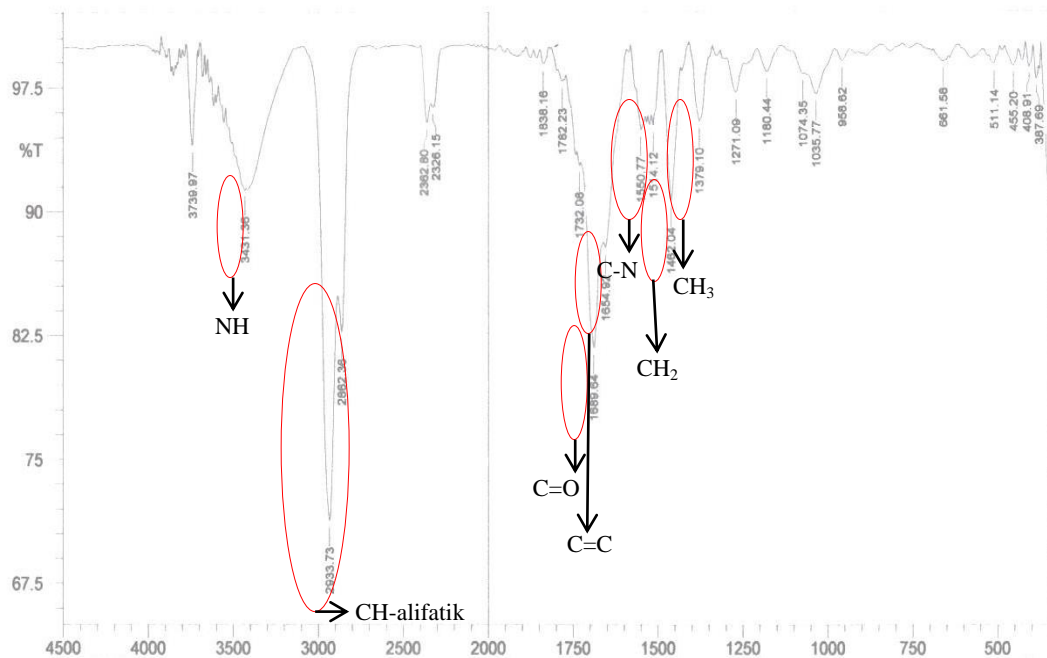
**Gambar 14.** Spektrum  $^1\text{H-NMR}$  Senyawa I

Berdasarkan hasil data  $^1\text{H-NMR}$  (Gambar 14) diperoleh signal pada  $\delta_H$  4-7 ppm yang merupakan geseran kimia proton pada daerah alkena, sehingga menunjukkan adanya proton yang terikat pada C=C (olefin). Hal ini bersesuaian dengan spektrum IR, dimana pada spektrum teridentifikasi gugus alkena. Selanjutnya terdapat proton yang terikat pada C- $\text{Sp}^3$ , yang ditunjukkan dengan munculnya signal pada  $\delta_H$  0-5 ppm. Signal  $\text{CH}_3$  (metil) muncul pada  $\delta_H$  1 ppm, signal  $\text{CH}_2$  (metilen) muncul pada  $\delta_H$  1-1,5 ppm, dan signal CH (metin) muncul pada  $\delta_H$  1,6 ppm. Data ini mendukung hasil analisis IR, dimana pada spektrum teridentifikasi gugus CH-alifatik.

Pada lingkungan kimia yang sama, nilai geseran kimia gugus yang semakin bercabang ( $\text{CH}_2$ ) selalu lebih besar dari gugus yang kurang bercabang ( $\text{CH}_3$ ). Serta gugus yang semakin banyak memiliki tetangga akan memiliki nilai geseran kimia yang lebih besar. Sehingga dapat disimpulkan bahwa signal CH pada spektrum NMR berada paling *disheilding* dibandingkan  $\text{CH}_2$  dan  $\text{CH}_3$  (Syah, 2016).

Pada spektrum  $^1\text{H-NMR}$ , signal  $\delta_{\text{H}}$  4,30 ppm dengan multiplisitas singlet merupakan daerah proton yang terikat pada gugus oksigen. Secara teori signal OH dan NH identik, akan tetapi pada spektrum FT-IR tidak memperlihatkan adanya gugus OH, maka puncak tersebut diidentifikasi berasal dari proton NH. Berdasarkan data FT-IR dan  $^1\text{H-NMR}$  maka dapat disimpulkan bahwa senyawa I merupakan senyawa golongan alkaloid yang tidak memiliki substituen OH.

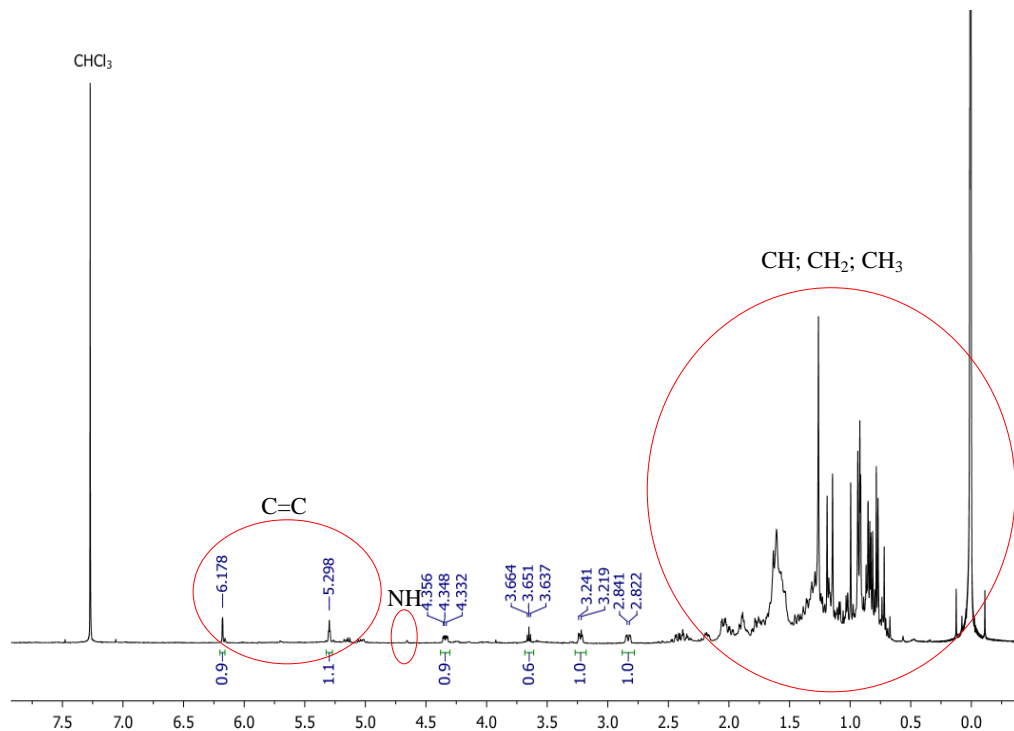
#### 4.2.2 Spektroskopi FT-IR dan NMR Senyawa II



**Gambar 15.** Spektrum FT-IR senyawa II

Berdasarkan hasil uji fitokimia bahwa senyawa II adalah alkaloid, diperkuat dengan data spektrum FT-IR yang memperlihatkan keberadaan gugus NH pada bilangan gelombang  $3431,36\text{ cm}^{-1}$ . Serapan ini didukung dengan adanya pita serapan pada bilangan gelombang  $1550,77$  dan  $1514,12\text{ cm}^{-1}$  yang menunjukkan adanya gugus C-N amida. Pita serapan pada bilangan gelombang  $2933,73$  dan  $2862,36\text{ cm}^{-1}$  mengindikasikan adanya gugus C-H  $\text{sp}^3$  yang diperkuat dengan munculnya pita serapan pada bilangan gelombang  $1462,04\text{ cm}^{-1}$  yang mengindikasikan gugus  $\text{CH}_2$

(metilen) serta pita serapan pada bilangan gelombang  $1379,10\text{ cm}^{-1}$  yang mengindikasikan gugus  $\text{CH}_3$  (metil), muncul pita serapan pada bilangan gelombang  $1689,64\text{ cm}^{-1}$  mengindikasikan gugus  $\text{C}=\text{O}$ . Pita serapan pada bilangan gelombang  $1654,82\text{ cm}^{-1}$  mengindikasikan gugus  $\text{C}=\text{C}$  (olefin).

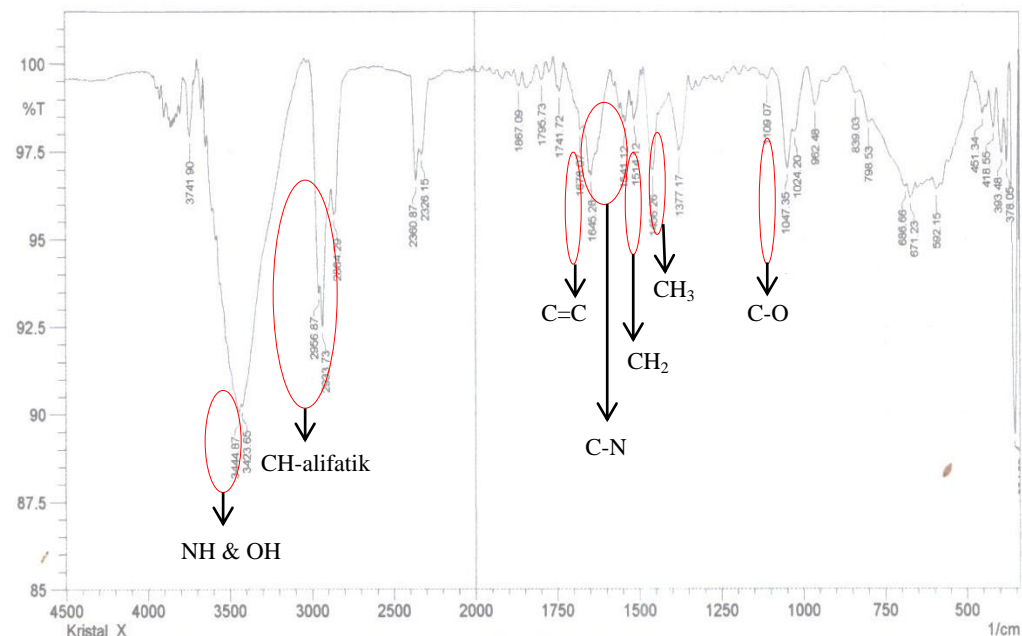


**Gambar 16.** Spektrum  $^1\text{H-NMR}$  Senyawa II

Berdasarkan hasil data  $^1\text{H-NMR}$  (Gambar 16) diperoleh signal pada  $\delta_H$  6,17; 5,29; dan 4,34 ppm yang merupakan geseran kimia proton pada daerah alkena. Hal ini bersesuaian dengan spektrum IR, dimana pada spektrum teridentifikasi gugus alkena. Pada spektrum terdapat pula proton yang terikat pada C-alifatik, ditunjukkan dengan munculnya signal pada  $\delta_H$  0-5 ppm yang merupakan geseran kimia proton pada daerah C-alifatik. Data ini mendukung hasil analisis IR, dimana pada spektrum tersebut teridentifikasi gugus CH-alifatik.

Pada spektrum  $^1\text{H-NMR}$ , terdapat pula signal dengan multiplisitas singlet yang melebar pada  $\delta_H$  4,65 ppm menunjukkan adanya gugus OH. Sebagaimana telah dijelaskan sebelumnya bahwa secara teori signal OH dan NH identik, akan tetapi pada spektrum FT-IR tidak memperlihatkan adanya gugus OH, maka puncak tersebut diidentifikasi sebagai gugus NH. Dari data FT-IR dan H-NMR maka dapat disimpulkan bahwa senyawa II merupakan senyawa golongan alkaloid yang tidak memiliki substituen OH.

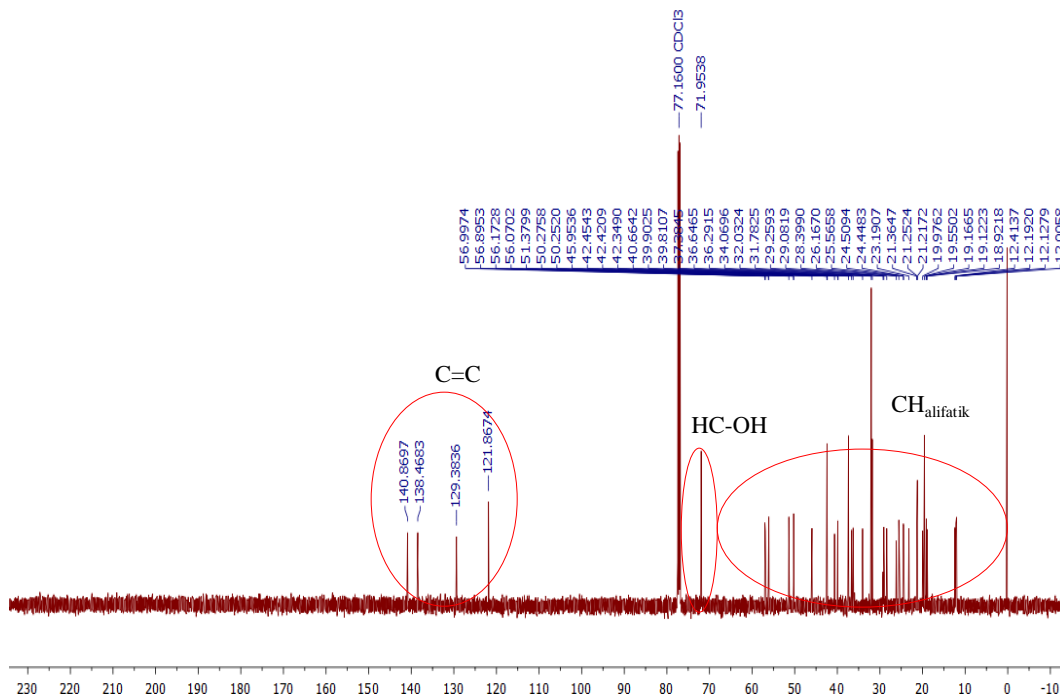
#### 4.2.3 Spektroskopi FT-IR dan NMR Senyawa III



**Gambar 17.** Spektrum FT-IR senyawa III

Berdasarkan hasil uji fitokimia bahwa senyawa III adalah alkaloid, diperkuat dengan data spectrum FT-IR yang memperlihatkan keberadaan gugus NH pada bilangan gelombang  $3444,87\text{ cm}^{-1}$ . Gugus NH tumpang tindih dengan gugus O-H pada bilangan gelombang  $3423,65\text{ cm}^{-1}$ . Hal tersebut didukung dengan adanya pita serapan pada bilangan gelombang  $1541,12$  dan  $1514,12\text{ cm}^{-1}$  yang menunjukkan adanya gugus C-N amida, serta adanya pita serapan pada bilangan gelombang  $1047,35\text{ cm}^{-1}$  yang menunjukkan adanya C-O. Pita serapan pada bilangan gelombang  $2956,87$ ;  $2923,73$ ; dan  $2866,29\text{ cm}^{-1}$  mengindikasikan adanya gugus C-H alifatik

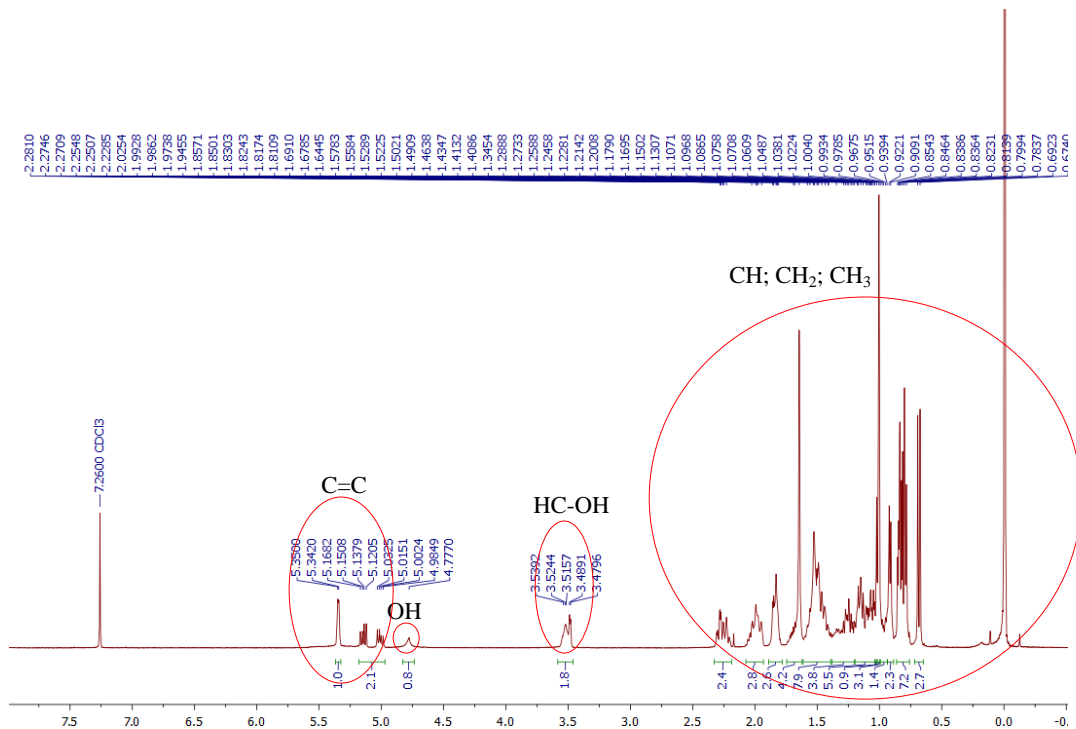
yang diperkuat dengan munculnya pita serapan pada bilangan gelombang 1456,26  $\text{cm}^{-1}$  yang mengindikasikan gugus  $\text{CH}_2$  (metilen), pita serapan pada bilangan gelombang 1377,17  $\text{cm}^{-1}$  yang mengindikasikan gugus  $\text{CH}_3$  (metil), muncul pita serapan pada bilangan gelombang 1645,28  $\text{cm}^{-1}$  mengindikasikan gugus  $\text{C}=\text{C}$  (olefin).



**Gambar 18.** Spektrum  $^{13}\text{C}$ -NMR Senyawa III

Berdasarkan data  $^{13}\text{C}$ -NMR (Gambar 18) diperoleh 44 signal untuk 31 karbon. Spektrum tersebut menunjukkan pula signal pada  $\delta_c$  140,72; 138,46; 129,38 ppm merupakan karbon olefin. Signal karbon pada  $\delta_c$  71,95 ppm merupakan oksi karbon. Selain itu muncul pula 3 signal karbon metil pada  $\delta_c$  12,19; 19,12; 18,92 ppm, 8 signal karbon metilen  $\delta_c$  (37,24; 31,63; 42,42; 31,78; 21,25; 39,90; 24,44; 28,39) ppm, 9 signal karbon metin  $\delta_c$  (71,81; 121,71; 32,03; 50,13; 56,99; 56,17; 36,29; 138,46; 129,38) ppm. Signal karbon kuarternar muncul pada  $\delta_c$  140,72; 36,29; 42,34 ppm. Signal-signal karbon tersebut mengindikasikan adanya

kerangka steroid yang tersubstitusi oleh gugus alkil, satu hidroksil, serta gugus amina tersier.



**Gambar 19.** Spektrum  $^1\text{H-NMR}$  Senyawa III

Berdasarkan hasil analisis data  $^1\text{H-NMR}$  (Gambar 19) diperoleh signal 3 gugus metil pada  $\delta_H$  0,67; 1,00 ppm masing-masing (3H, s), dan  $\delta_H$  0,91 (3H, d,  $J = 6,5$  Hz). 9 gugus metilen pada  $\delta_H$  1,84; 1,08; 1,53; 1,98; 1,16; 1,57; 1,07 ppm masing-masing (1H, m) serta  $\delta_H$  2,27; 1,98; 1,49; 1,83 ppm masing-masing (2H, m). Gugus metin pada  $\delta_H$  3,53; 5,36; 1,46; 1,11 ppm masing-masing (1H, m) serta 1,01 ppm (1H, d,  $J = 9,2$  Hz). Terdapat pula signal dengan multiplisitas singlet yang melebar pada  $\delta_H$  4,77 ppm yang menunjukkan adanya gugus OH, serta signal proton yang terikat pada alkil turunan alkohol yaitu pada  $\delta_H$  3,52 ppm. Gugus NH pada H-NMR identik dengan OH sehingga dimungkinkan signal NH dan OH tumpang tindih atau membentuk heterosiklik. Data lengkap senyawa III dapat dilihat pada Tabel 3.

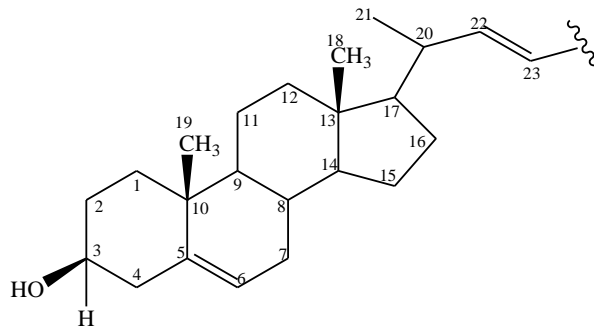


**Tabel 3.** Data spektroskopi H-NMR dan C-NMR senyawa III

Posisi	H-NMR $\delta$ ppm (H,multiplisitas, konst.kopling)	C-NMR $\delta$ ppm	HMBC (H $\rightarrow$ C)	COSY (H $\leftrightarrow$ H)
1	1,84 (1H,m) 1,08 (1H,m)	37,24	C-19	2
2	1,84 (1H,m) 1,53 (1H,m)	31,63	C-3	-
3	3,53 (1H,m) 4,7 (brs,3-OH)	71,81	-	4, 2
4	2,27 (2H,m)	42,4	C-3, C-5, C-6	-
5	-	140,72	-	-
6	5,36 (1H,s)	121,71	C-4	7
7	1,98 (2H,m)	31,78	C-9, C-14	-
8	1,46 (1H,m)	32,03	-	9
9	0,92 (1H,m)	50,1	-	-
10	-	36,1	-	-
11	1,49 (2H,m)	31,25	-	10,12
12	1,98 (1H,m) 1,16 (1H,m)	39,9	-	-
13	-	42,3	-	-
14	1,01 (1H,d, J = 9,2 Hz)	56,9	C-7, C-15	13,15
15	1,57 (1H,m) 1,07 (1H,m)	24,4	C-17	-
16	1,83 (2H,m)	28,39	C-12	-
17	1,106 (1H,m)	56,17	C-12	16,18
18	0,67 (3H,s)	12,1	C-14	-
19	1,004 (3H,s)	19,12	C-1, C-5, C-9, C-10	20
20	1,34 (1H,m)	36,2	-	-
21	0,91 (3H,d, J = 6,5 Hz)	18,9	C-17	-
22	5,14 (1H,dd, J = 8,7 Hz)	138,3	-	-
23	5,08 (1H,dd, J = 8,75 Hz)	129,3	-	-

Berdasarkan data spektrum  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , HSQC, HMBC, dan COSY yang diperoleh maka kemungkinan struktur senyawa yang telah berhasil diisolasi adalah golongan pseudoalkaloid (steroid alkaloid). Kerangka dasar senyawa adalah steroid dengan satu ikatan rangkap pada atom C-5 dan C-6. C-17 dari kerangka steroid terikat pada C-20 dari unit alkana, adapun ciri khas signal kerangka senyawa steroid pada NMR yaitu pada spektrum C-NMR terdapat signal karbon yang khas pada  $\delta_c$  70-140 ppm, dan signal C-alifatik yang tumpang tindih pada daerah  $\delta_c$  0-60 ppm yang merupakan ciri kerangka steroid. Oleh karena senyawa III kemungkinan

merupakan senyawa baru, sehingga masih diperlukan data tambahan (HRMS) untuk dapat meyakinkan adanya gugus N. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa senyawa III merupakan golongan senyawa alkaloid. Dengan demikian struktur kerangka dasar yang diperoleh sebagaimana yang terlihat pada Gambar 20.



**Gambar 20.** Kerangka Dasar Senyawa III

### 4.3 Uji Anti virus

Pengujian anti virus untuk ekstrak *n*-heksan *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visena* dilakukan melalui pengkulturan sel Vero serta sel C6/36 pada medium MEM yang telah dicampurkan 10% FBS, selanjutnya pengujian aktivitas anti virus dilakukan melalui metode FFURA dan diukur menggunakan ELISA reader sehingga diperoleh daya hambat ( $IC_{50}$ ) sebesar 2,39  $\mu\text{g/mL}$ . Berdasarkan nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak *n*-heksan aktif menghambat virus *dengue* (DENV-2) dengan nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh  $<30 \mu\text{g/mL}$  (Versiati, dkk., 2014).

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Senyawa metabolit sekunder yang berhasil diisolasi dari fraksi aktif *A. salina* ekstrak *n*-heksan kulit batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visnia* antara lain senyawa I seberat 2 mg (alkaloid), senyawa II seberat 2,2 mg (alkaloid), senyawa III seberat 51 mg (pseudoalkaloid). Senyawa III memiliki titik leleh 144-145°C.
2. Ekstak *n*-heksan kulit batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visnia* berpotensi dalam menghambat virus DENV-2, dimana nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh sebesar 2,39 µg/mL yang dikategorikan aktif.

#### 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai isolasi senyawa metabolit sekunder fraksi aktif *A. salina* L. ekstrak metanol, ekstrak air dari kulit batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visnia*, serta pengujian bioaktivitas ekstrak tersebut terhadap Anti DHF.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A., Usman, H., dan Zenta, F., 2013, Isolasi Metabolit Sekunder Dari Fraksi Etil Asetat Daun *Melochia umbellata* Yang Aktif Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach, *Indonesia Chimica Acta*, **1**(1):1-9.
- Arthanari, S., Renukadevi, P., Vanitha, J., Vankateshwaran, K., Ganesh, M., dan Clecq, A. D., 2011, Evaluation of Antiviral and Cytotoxic Activities of Methanolic Extract of *Thespesia populena* (Malvaceae) Flowers, *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, **17**(1):386-391.
- Breuer, H., Rangel, M., dan Medina, E., 1982, *Pharmacological Properties of Melochinine, an Alkaloid Central American Cattle Paralysis*, *Toxicology* **25**(1): 223-242.
- Dias G. C. D., Gressler V., Hoenzel S. C. S. M., Silva U. F., Dalcol I. I., dan Morel, A. K., 2007, Constituents of The Roots of *Melochia chamaedrys*, *Phytochemistry*, **68**(1): 668-672.
- Dini, I., 2005, *Penelusuran Metabolit Sekunder Ekstrak Kulit Batang Tumbuhan Paliasa (Kleinhovia hospita Linn) Dan Uji Bioaktivitasnya Terhadap Benur Udang Artemia salina*, Tesis tidak diterbitkan, Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Dini, I., dan Darminto, 2012, Metode Isolasi Senyawa Bioaktif Pada Tumbuhan Paliasa (*Kleinhovia hospita Linn.*), *Jurnal Chemica*, **13**(2):11-16.
- Doarest, Y., 2010, *Hubungan Antara Kadar Antibodi Antitrombosit Dengan Jumlah Trombosit, Umur dan Lama Demam Pada Penderita Demam Berdarah Dengue (DBD)*, Bagian/SMF Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Universitas Andalas, Padang.
- Ersam, 2004, *Keunggulan Biodiversitas Hutan Tropika Indonesia dalam Merekayasa Model Molekul Alam*, Makalah disajikan dalam Seminar Nasional Kimia VI, Jurusan Kimia FMIPA ITS, Surabaya.
- Erwin, Noor, A., Soekamto, N. H., dan Harlim, T., 2009, Skrining Bioaktivitas Beberapa Bagian Jaringan Tumbuhan Paliasa (*Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* K.), *Indonesia Chimica Acta*, **2**(1): 1-9.
- Erwin, 2010, *Penentuan Struktur Molekul Isolat Kayu Batang Melochia umbellata (Houtt) Stapf var. Degrabrata K. (Paliasa) dan Uji Sel Murin Leukimia P-388*, Disertasi tidak diterbitkan, Program Pasca Sarjana, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Erwin, Noor, A., Soekamto, N. H., Altena, van I., Syah, Y. M., 2014, *Waltherione C and cleomiscosin from Melochia umbellata var. Degrabrata K. (Malvaceae)*,

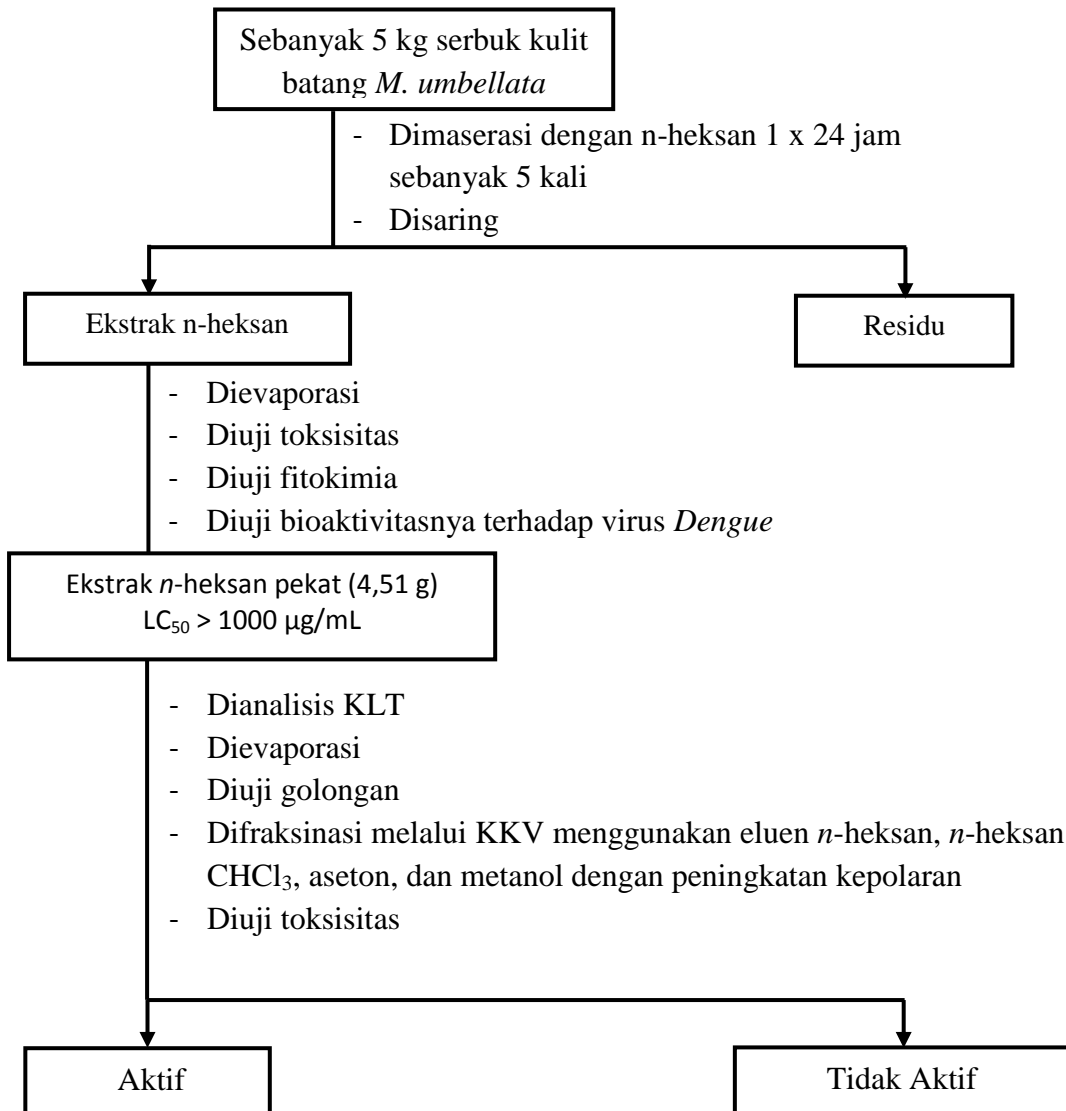
- biosynthetic and chemotaxonomic significance, *J. Biochemical Systematics and Ecology*, **55**(1): 358-361.
- Fandi, R., 2010, *Isolasi Senyawa pada Fraksi dari Ekstrak n-heksan Kulit Akar Tumbuhan Paliasa (Kleinhovia hospita Linn) dan Uji Aktivitas Antibakteri Staphylococcus aureus, Neisseria gonorrhoeae dan Mycobacterium leprae*, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Kimia FMIPA UNHAS, Makassar.
- Gressler, V., Stuker C. Z., Dias, G. O. C. de., Dalcol I. I., Burrow, R.A., Schmidt J., Wessjoonn, L., dan Morel A. F., 2007, Quinolone Alkaloid From *Waltheria dauradinha*, *Phytochemistry*, **69**(1): 99-999.
- Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia, Jilid III*, Terjemahan Oleh Balit Bang Kehutanan, Yayasan Sarana Warna Jaya, Jakarta.
- Jadulco, C.J., Pond, C.D., Wagoner, R.M.V., Koch, M., Gideon, O.G., Matainaho, T.K., Piskaut, P., Barrows, L.R., 2014, 4-Quinolone Alkaloids from *Melochia odorata*, *Journal Natural Product*, **77**(1), 183–187.
- Kapadia, G. J., Shukla Y. N., Morton, J. F., and Lloyd, A., 1977, New Cyclopetide Alkaloids from *Melochia tomentosa*, *Phytochemistry*, **16**(9): 1431-1433.
- Karmila, 2014, *Penentuan Aktivitas Eksrak Daun Tumbuhan Melochia umbellata (Houtt) Stapf var. Degrabrata K. (Paliasa) Terhadap Malassezia furfur dan Candida albicans*, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Kimia FMIPA UNHAS, Makassar.
- Kemenkes, 2016, Demam Berdarah Biasanya Mulai Meningkat di Januari, (nline), ([www.depkes.go.id/articel](http://www.depkes.go.id/articel)) diakses tanggal 21 Maret 2016.
- Konate, K., Souzu, A., Meda, N. T. R., Coulibaly, A. Y., Kiendrebeogo, M., Lamein-Meda, A., Lamidi, M., Millogo-Rasolimby, J., Nacoulma, O. G., 2010, Polyphenol Contents, Antioxidant and AntiInflammatory Activities of Six Malvaceae Species Traditionally used to Treat Hepatitis B in Burkina Faso, *European Journal Sains Resources*, **44**(4):570-580.
- Labarre, D. D., and Lowy, R. J., 2001, Improvements in Methods for Calculating Virus Titer Estimates from TICD<sub>50</sub> and Plaque Assays, *Journal of Virol Methods*, (96): 107-126.
- Lambeth, C. R., White, L. J., Johnston, R. E., and De Silva, A. M., 2005, Flow Cytometry-Based Assay for Titrating Dengue Virus, *Journal of Clinical Microbiology*, p. 3267-3272.
- Meyer, B.N., Ferrigny, N.R., dan Putnam, J.L., 1982, Brine Shrimp, A Covennient General Bioassay for ActPive Plant Constituent, *Journal of Medical Plant Research*, **45**(1): 31-34.

- Mosmann, 1983, Rapid Colometric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays, *Journal of Immunological Methods*, (65): 55-63.
- Muaja, A. D., Koleangan, H. S. J., Runtuwene, M. R. J., 2013, Uji Toksisitas dengan Menggunakan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Sayogi (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi, *Jurnal MIPA UNSRAT online*, 2(2): 115-118.
- Nuvita, T., 2006, *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Paliasa Terhadap Radikal Bebas Penyebab Penyakit Degeratif*, Tesis tidak diterbitkan, Program Studi Biomedik/Farmakologi PPS UNHAS, Makassar.
- Raflizar, Adimunca, C., dan Tuminah, S., 2006, Dekok Daun Paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn.) Sebagai Obat Radang Hati Akut, *Cermin Dunia Kedokteran*, 50(1): 10-14.
- Rahim, A., 2011, Uji Toksisitas Beberapa Senyawa Alkaloid Hasil Isolasi Dari Ekstrak Metanol Daun *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf. var. Degrabrata Pada Larva *Artemia salina* Leach, *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 15(1): 35-39.
- Ridhay, A., Noor, A., Soekamto, N. H., Harlim, T., and Altena, I., V., 2012, A Stigmasterol Glycoside From The Root Wood Of *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. Degrabrata K., *Indo. J. Chem.*, 12(1): 100-103.
- Roche, 2007, *Cell proliferation reagent WST-1. Colometric assay (WST-1 based) for the non radioactive quantification of cell proliferation, cell viability and cytotoxicity*. Roche Applied Science. Germany. Version October 2007: pp 1-4.
- Roose, A., 2008, *Hubungan Sosiodemografi Dan Lingkungan Dengan Kejadian Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) Di Kecamatan Bukitraya Kota Pekanbaru*, Skripsi diterbitkan, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Rusniati, A., 2001, *Penentuan LD<sub>50</sub> Infus Daun Paliasa Melochia umbellata (Houtt) Stapf var. Visenia (Houtt)*, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Farmasi FMIPA UNHAS, Makassar.
- Siswandoyo dan Soekarjo, B., 2000, *Kimia Medicinal*, Airlangga University Press, Surabaya, Edisi Kedua, 190-200.
- Soekamto, N. H., Noor, A., Dini, I., Rudyansyah, and Garson, M., 2008, Coumarin And Steroid Coumpound From Stem Bark Of *Kleinhovia hospita* Linn., *Proceding of The International Seminar on Chemistry*, 231-234.
- Soekamto, N. H., Alfian, N., Iwan, D., Hasriani, A., Ruhma, dan Agustono, 2010, Dua Senyawa Triterpenoid Dari Tumbuhan Paliasa (*Kleinhovia hospita* L.) Famili Sterculiaceae, *J. Sains MIPA*, 16(2): 94-98.

- Stepanus, J.B., 2011, *Isolasi dan Identifikasi Metabolit Sekunder dari ekstrak n-Heksan yang tidak Aktif Terhadap Artemia salina Kayu Akar Tumbuhan Paliasa (Kleinhovia hospita Linn.) dan Uji Bioaktivitasnya*, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Supardan, D., 2013, *Potensi Antivirus Metabolit Sekunder Aktinomisetes Terhadap Viirus Dengue Serotip 3*, Teses tidak diterbitkan, Program Studi Bioteknologi UGM, Yogyakarta.
- Syah, Y. M., 2016, *Dasar-dasar penentuan struktur molekul berdasarkan data spektrum  $^1\text{H}$  &  $^{13}\text{C}$  NMR*, ITB, Bandung.
- USDA-NIRCS, 2012, *Classification For Melochia umbellata*, (online), ([http://plant.usda.gov/java/classificationservlet=Kkk HO](http://plant.usda.gov/java/classificationservlet=Kkk%20HO)) diakses tanggal 20 Januari 2016.
- Usman, Soekamto, N. H., Usman, H., dan Ahmad, A., 2014, *Senyawa Turunan Oleanan dan Kulit Batang Melochia umbellata (Houtt) Stapf var. Degrabrata K. dan Bioaktivitasnya*, *Ind. J. Chme. Res.*, **2**(1): 110-115.
- Versiati, T. P., Hafid, A. F., Widyawaruyanti, A., 2014, *Aktivitas Antiviral Batang Eucalyptus globulus Terhadap Virus Hepatitis C JFH1a*, *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, **1**(1): 16-17.
- WHO, 2002, *Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever*, Geneva: World Health Organisation, Fact Sheet No. 17.
- Wink, M., 2003, *Evolution of Secondary Metabolites from an Ecological and Molecular Phylogenetic Perspective*, *Phytochemistry*, **64**(1): 13-19.
- Wullur, S., Firdaus, Natsir, H., and Soekamto, H., 2012, *Study Of Coumpounds From Extract Of Melochia umbellata (Houtt) Stapf var. Degrabrata K. (Paliasa) Leaves That Has Potential As Antibacterial*, *Indonesia Chimica Acta*, **8**(1): 1-8.
- Yang, H., Protiva, P., Cui, B., Ma, Cuiying., Baggett, S., Hequet, V., Mori, S., Weinstein, B., dan Kennelly, E. J., 2003, *New Bioactive Polyphenols from Theobroma grandiflorum Cupuac, u*, *Journal of Natural Products*, **66**(11): 1501-1504.
- Zandi, K., Teoh, B. T., Sam, S. S., Wong, P. F., Mustafa, M. R., dan Abubakar, S., 2012, *Novel Antiviral Activity Of Baicalein Against Dengue Virus*, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **12**(214):1-9.

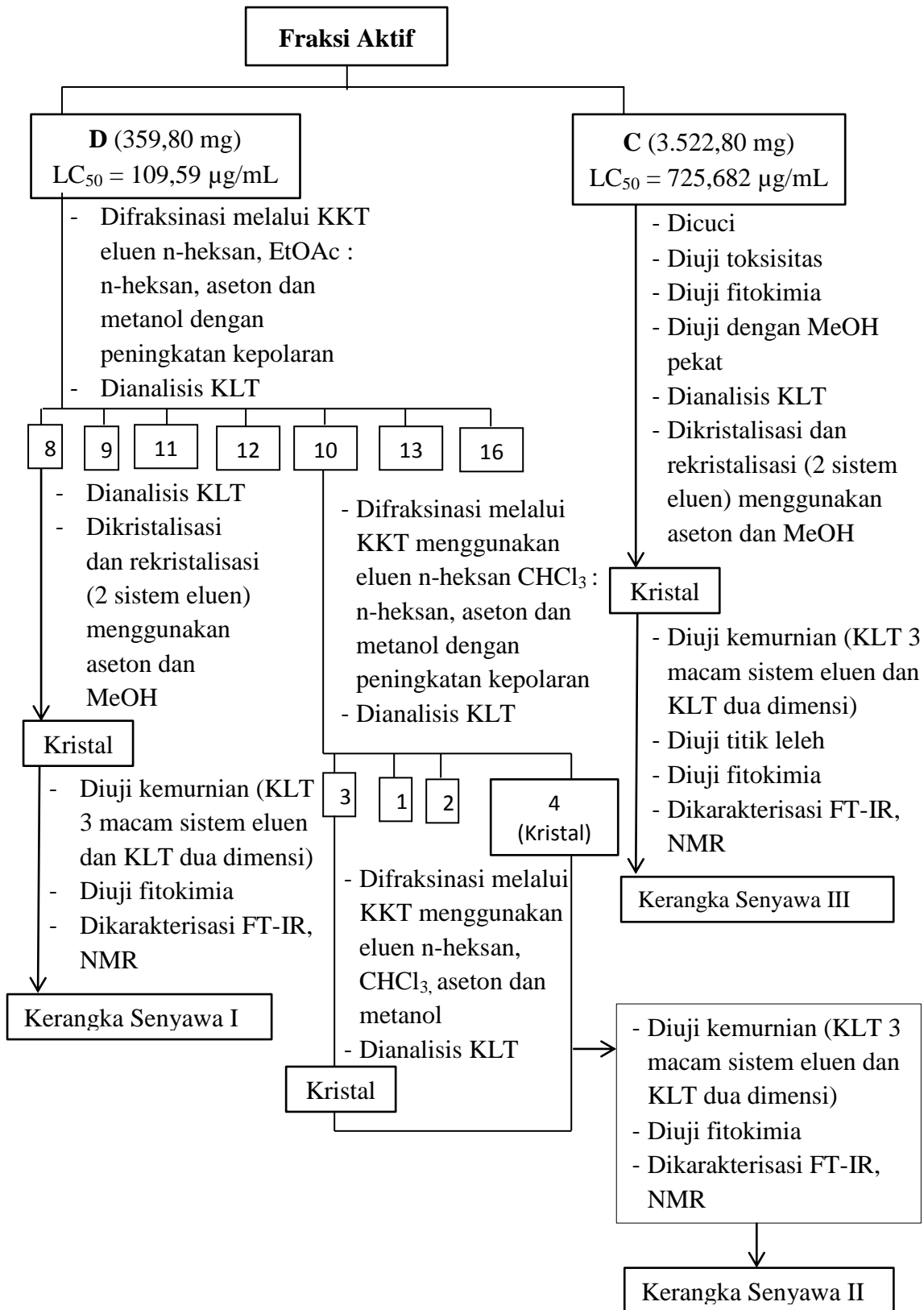
## LAMPIRAN

**Lampiran 1.** Bagan Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Kulit Batang Tumbuhan *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*



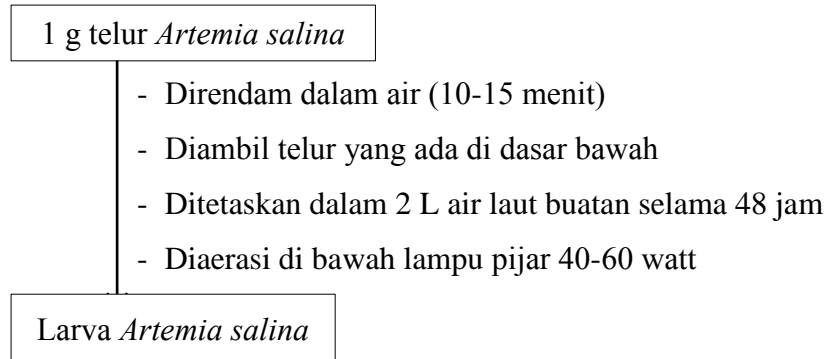


**Lampiran 2.** Bagan Isolasi Senyawa I, II, III dari Fraksi Aktif

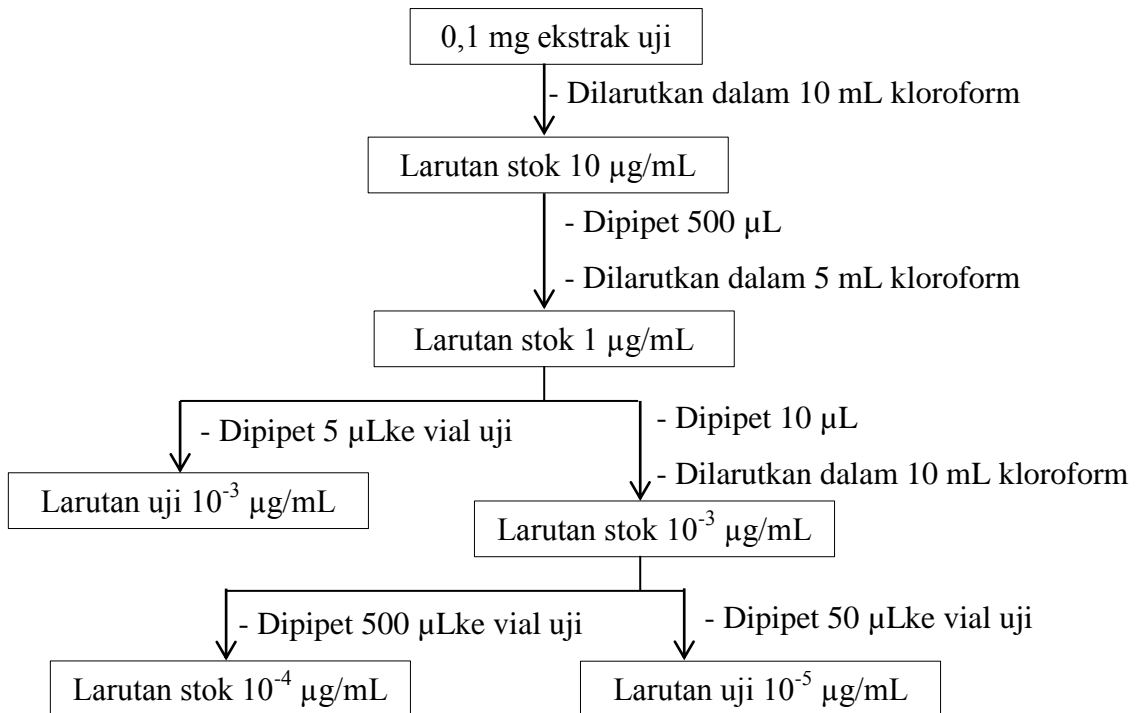


### Lampiran 3. Skema Kerja Uji Toksisitas (BSLT)

#### A. Penyiapan Larva

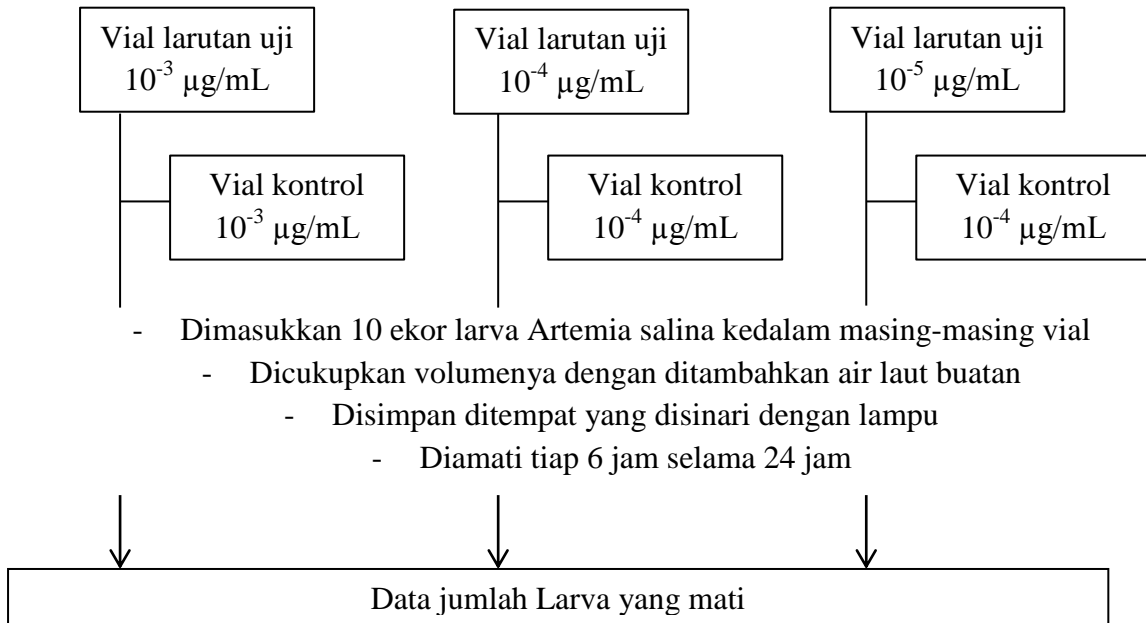


#### B. Penyiapan Sampel Uji (Meyer, dkk., 1982)

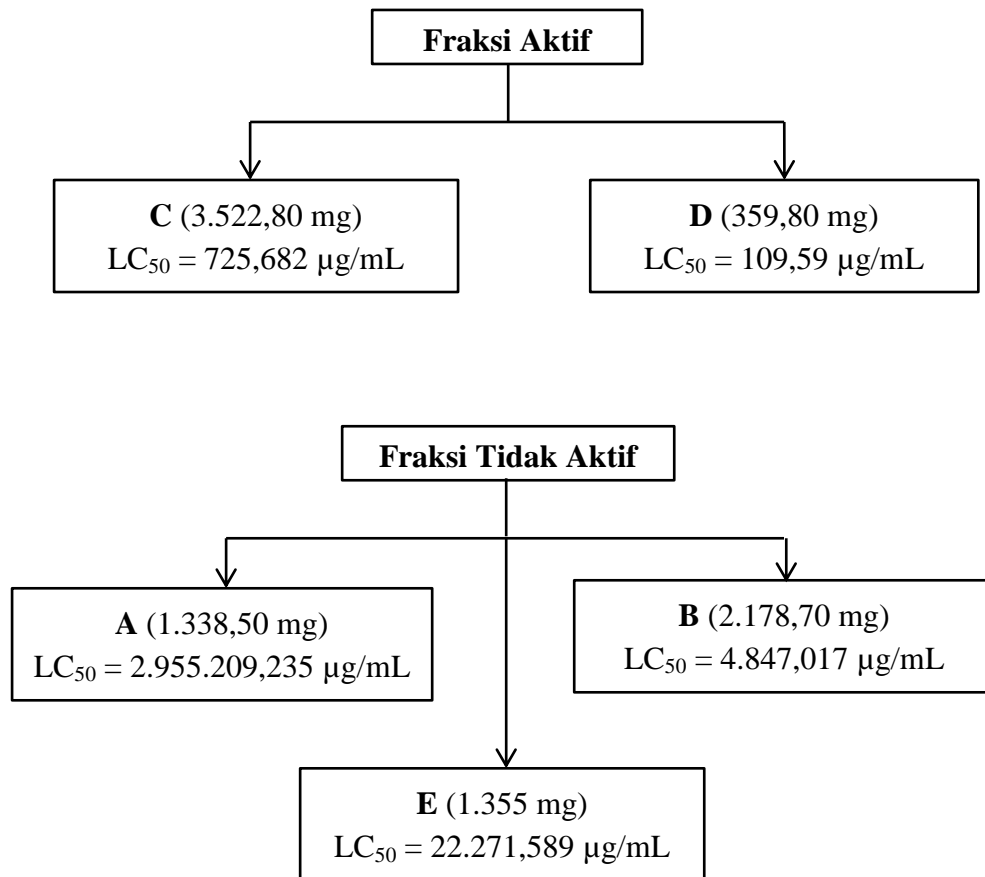


kontrol untuk setiap konsentrasi larutan uji disiapkan menggunakan air laut dan pelarut kloroform dengan perlakuan yang sama dengan sampel.

C. Uji BSLT (Muaja, dkk., 2013)

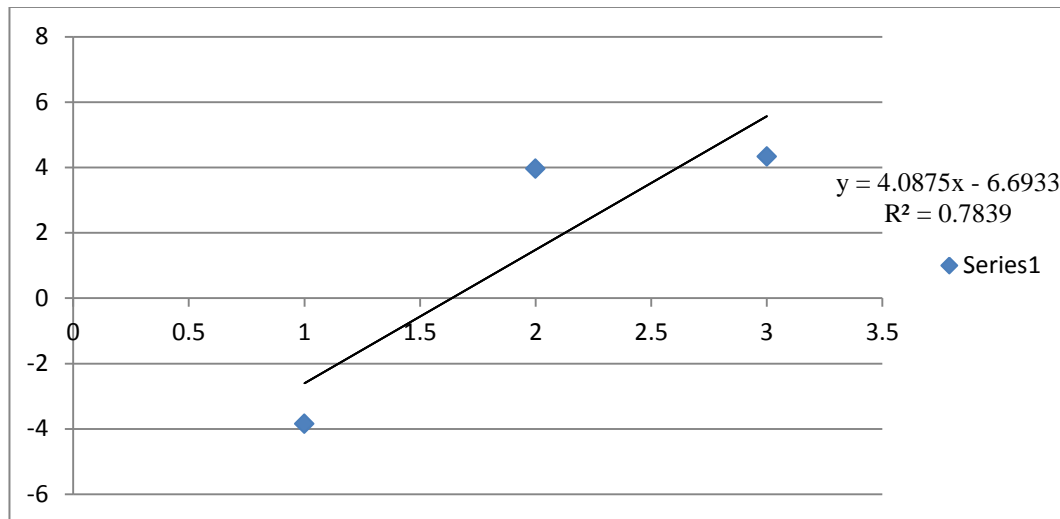


**Lampiran 4.** Bagan Fraksi Aktif dan Tidak Aktif



**Lampiran 5.** Nilai LC<sub>50</sub> Fraksi C

Kode Sampel	Konsentrasi	Log konsentrasi (X)	Nilai probit (y)	% Mortalitas
Fraksi C	1000	3	4.33	25
	100	2	3.96	15
	10	1	-3.845	-12.5



Perhitungan nilai LC<sub>50</sub>: Persamaan regresi:  $y = ax + b$ ;  $y = 4,0875x - 6,6933$

LC<sub>50</sub> nilai probit adalah 5

$$LC_{50} = 4,0875x - 6,6933$$

$$5 = 4,0875x - 6,6933$$

$$X = \frac{5 + 6,6933}{4,0875} = 2,8607$$

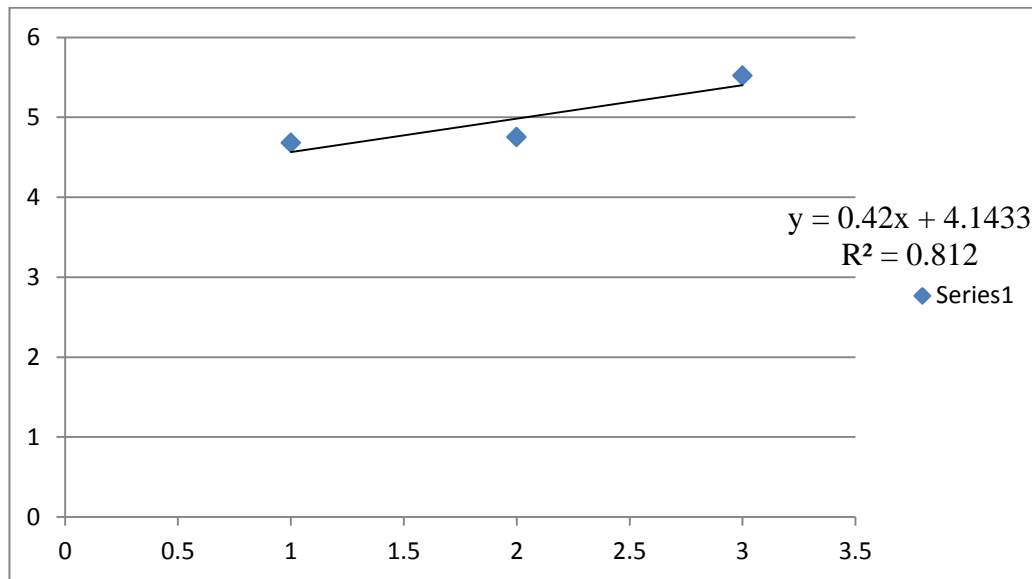
Sehingga,  $\log x = 2,8607$

$$X = \text{antilog } 2,8607 = 725,6817$$

Keterangan : Toxic

Nilai LC<sub>50</sub> Fraksi D

Kode Sampel	Konsentrasi	Log konsentrasi (X)	Nilai probit (y)	% Mortalitas
Fraksi D	1000	3	5.52	70
	100	2	4.75	40
	10	1	4.68	37.5



Perhitungan nilai LC<sub>50</sub>: Persamaan regresi:  $y = ax + b$ ;  $y = 0,42x + 4,1433$

LC<sub>50</sub> nilai probit adalah 5

$$LC_{50} = 0,42x + 4,1433$$

$$5 = 0,42x + 4,1433$$

$$X = \frac{5 - 4,1433}{0,42} = 2,0398$$

Sehingga,  $\log x = 2,0398$

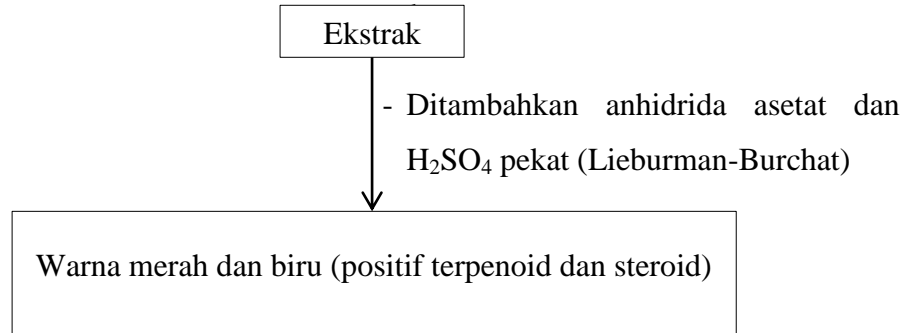
$$X = \text{antilog} = 198,588$$

Keterangan : Toxic

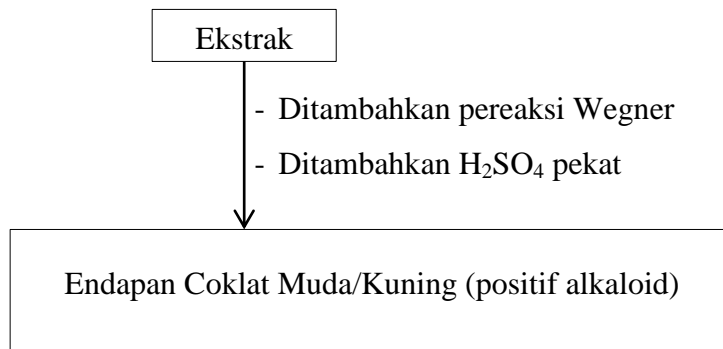
**Lampiran 6. Bagan Uji Fitokimia**

a. Uji Fitokimia Ekstrak

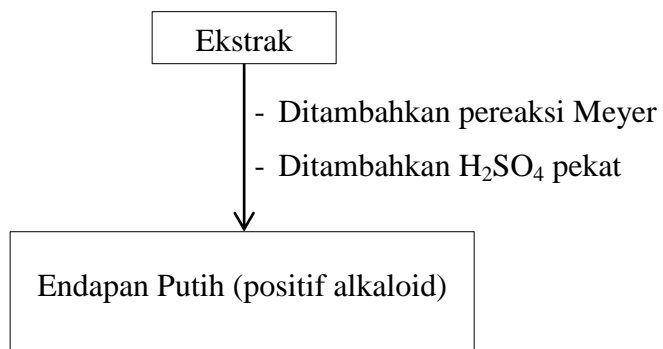
1) Uji Terpenoid dan Steroid



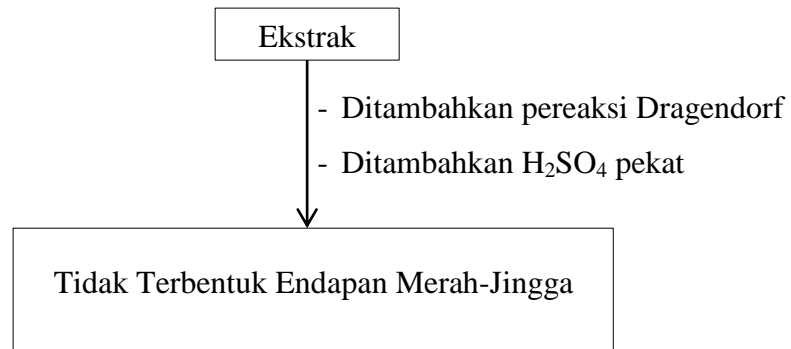
2) Uji Alkaloid (Wegner)



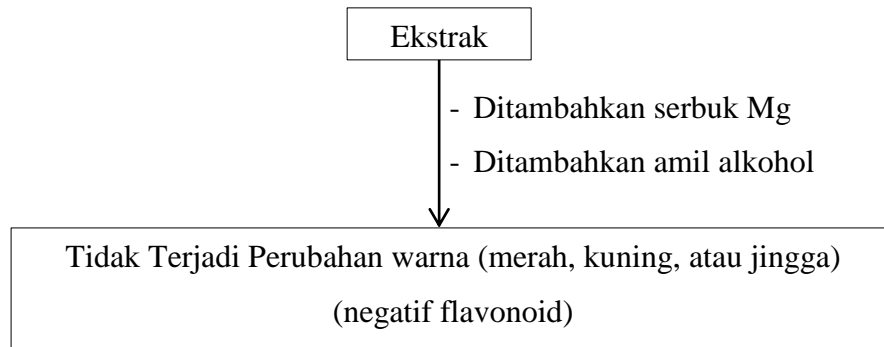
3) Uji Alkaloid (Meyer)



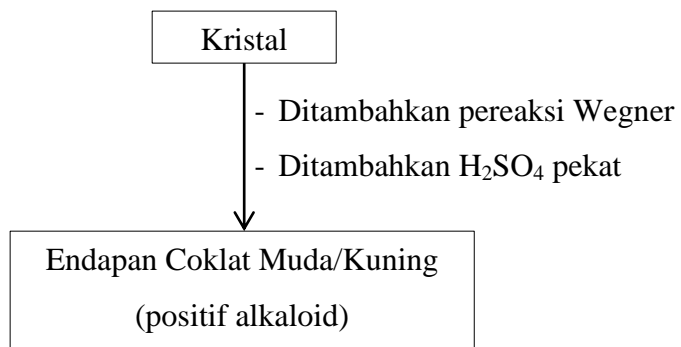
4) Uji Alkaloid (Dragendorf)



5) Uji Flavonoid



b. Uji Fitokimia Senyawa





**Lampiran 7. Perhitungan Daya Hambat (IC<sub>50</sub>) Anti Virus**

No	Absorbansi	Konsentrasi (µg/mL)	% Inhibisi
1	0.119	50	61.36
2	0.143	25	53.57
3	0.171	12.5	44.48
4	0.196	6.25	36.36
5	0.22	3.13	28.57
6	0.243	1.56	21.1
7	0.287	0.78	6.82
8	0.3	0.39	2.59
9	0.308	Kontrol	-

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_k - A_s}{A_k} \times 100 \% \quad \text{Keterangan : } A_k = \text{Absorbansi Konrol}$$

$A_s = \text{Absorbansi Sampel}$

$$1) \frac{0,308 - 0,119}{0,308} \times 100 \% = 61,36\%$$

$$2) \frac{0,308 - 0,143}{0,308} \times 100 \% = 53,57\%$$

$$3) \frac{0,308 - 0,171}{0,308} \times 100 \% = 44,48\%$$

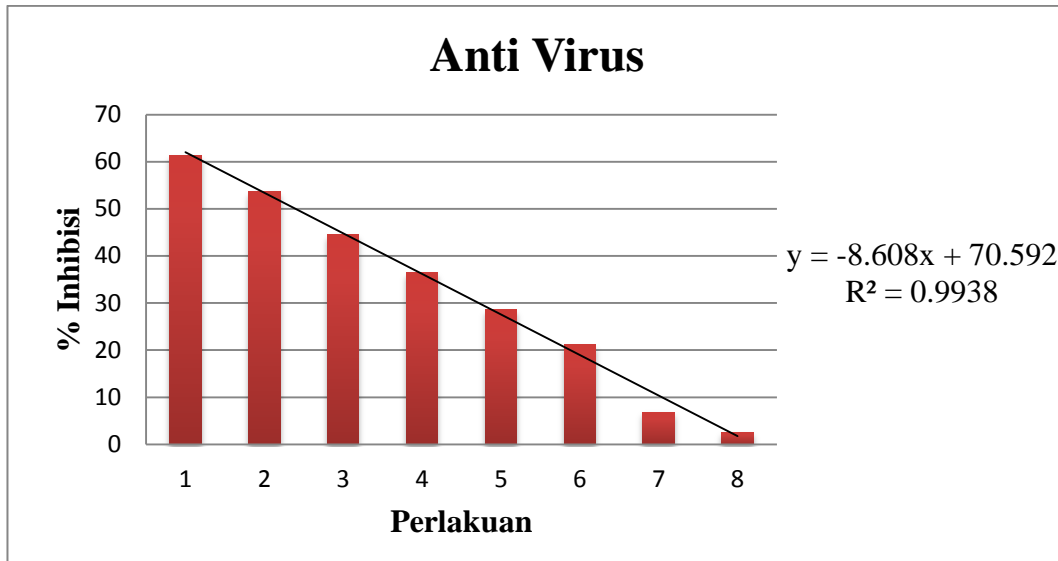
$$4) \frac{0,308 - 0,196}{0,308} \times 100 \% = 36,36\%$$

$$5) \frac{0,308 - 0,22}{0,308} \times 100 \% = 28,57\%$$

$$6) \frac{0,308 - 0,119}{0,308} \times 100 \% = 21,1\%$$

$$7) \frac{0,308 - 0,119}{0,308} \times 100 \% = 6,82\%$$

$$8) \frac{0,308 - 0,119}{0,308} \times 100 \% = 2,59\%$$



Nilai  $IC_{50}$  untuk senyawa adalah:

$$x = IC_{50}$$

$$y = 50$$

$$a = -8,608$$

$$b = 70,59$$

$$IC_{50}(x) = \frac{y - b}{a} = \frac{50 - 70,59}{-8,607} = \frac{-20,59}{-8,607} = 2,39 \mu\text{g/mL}$$

Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian



Proses Maserasi Sampel



Proses Evaporasi Ekstrak



Ekstrak *n*-Heksan



Proses KKV



Fraksi-fraksi hasil KKV



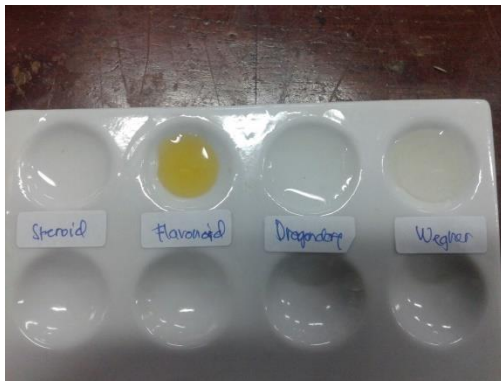
Uji Fitokimia Ekstrak



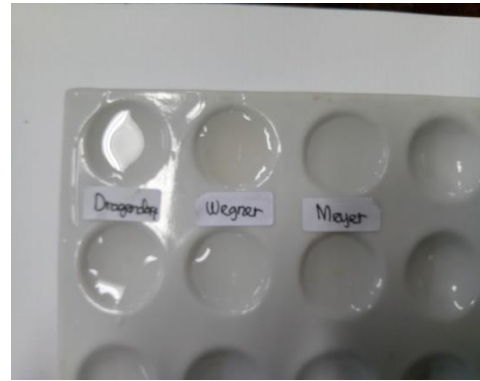
Fraksi D



Proses KKT



Uji Fitokimia Senyawa I & II



Uji Fitokimia Senyawa III



Kristal Senyawa III